

**UNTERSUCHUNGEN
ZUM VITAMIN C-STOFFWECHSEL
BEI KRALLENAFFEN DER SPEZIES
SAGUINUS FUSCICOLLIS NACH ORALER
UND INTRAVENÖSER VERABREICHUNG
VON ^{14}C -MARKIERTER ASCORBINSÄURE**

Nicole Gaiser

Disbui. München

1989



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

**UNTERSUCHUNGEN ZUM VITAMIN C-STOFFWECHSEL BEI KRALLENAFFEN
DER SPEZIES SAGUINUS FUSCICOLLIS NACH ORALER UND INTRAVENÖSER
VERABREICHUNG VON ^{14}C -MARKIERTER ASCORBINSÄURE**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Nicole Gaiser
aus
München
München, 1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ.-Prof. Dr. H. Zucker

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. B. Gedek

Tag der Promotion: 28. Juli 1989

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1 Vitamin C-Biosynthese in der Evolution	3
2.2 Resorption, Transport, Verteilung	4
2.3 Funktionen	5
2.4 Vitamin C-Bedarf von Mensch und nicht-menschlichen Primaten	7
2.5 Metabolismus	10
2.6 Vitamin C und Streß	14
2.7 Retention und Halbwertszeit	16
3. Eigene Untersuchungen	18
3.1 Material und Methoden	18
3.1.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen	18
3.1.2 Versuchsplanung und -durchführung	19
3.1.3 Probengewinnung und -aufbewahrung	25
3.1.3.1 Kotproben	25
3.1.3.2 Harnproben	25
3.1.3.3 Blutproben	25
3.1.3.4 CO ₂ -Absorption aus der Atemluft	26
3.1.4 Analytische und radiometrische Methoden	26
3.1.4.1 Bestimmung der ¹⁴ C-Aktivität in Kot und Serum	26
3.1.4.2 Bestimmung der ¹⁴ C-Aktivität im Urin	27
3.1.4.3 Bestimmung der Vitamin C-Metaboliten und ihrer ¹⁴ C-Aktivität im Urin	27

3.1.4.4	Bestimmung der ^{14}C -Aktivität in der Expirationsluft	28
3.1.4.5	Berechnungen	28
3.2	Ergebnisse	29
4.	Diskussion	59
4.1	$^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung in der Atemluft; Einfluß von Streß	59
4.2	^{14}C -Ausscheidung und Ascorbinsäure- Metaboliten im Urin	61
4.3	^{14}C -Ausscheidung im Kot	64
4.4	Bewertung der kinetischen Parameter	65
4.5	Schlußfolgerungen	70
5.	Zusammenfassung	72
	Summary	73
	Literaturverzeichnis	74

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Erstmals 1753 wurde Skorbut in Zusammenhang mit einer Mangelerkrankung vom schottischen Schiffsarzt James Lind erkannt und in einem Buch beschrieben (LIND, 1753). 1912 wurde in Versuchen an Meerschweinchen der Skorbut als Avitaminose erkannt und für den bei dieser Avitaminose fehlenden Stoff der Name Vitamin C gewählt. Die Isolierung von Ascorbinsäure aus der Nebenniere gelang im Jahre 1928. Sie wurde wegen ihrer Säureeigenschaften damals Hexuronsäure genannt. Erst 1932 wurde die Identität von Hexuronsäure und Vitamin C durch den Nachweis der antiskorbutischen Eigenschaften sichergestellt. L-Ascorbinsäure ist ein Kohlenstoffderivat, sie stellt das Lacton der Enolform der 2- bzw. 3-Ketogulonsäure dar, mit der Summenformel $C_6H_8O_6$. Da sie von einigen Tierarten und dem Menschen nicht selbst synthetisiert werden kann, ist sie für diese ein essentieller Nährstoff. Die Ascorbinsäure wurde in die Reihe der Vitamine eingeordnet, obwohl der Bedarf weit über dem anderer Vitamine liegt (MOHN, 1974).

Die Krallenaffengattung der Tamarine (Fam. Callitrichidae), zur Primatenunterordnung der Neuweltaffen gehörend, sind auf exogene Vitamin C-Zufuhr angewiesen. Sie tragen an den Großzehen den für Primaten typischen Plattnagel, die übrigen Nägel sind zu Krallen umgebildet. Nach ihrer Dentition werden sie von den zur gleichen Familie gehörenden Marmosets unterschieden, bei denen die Zähne im Unterkiefer gleichlang sind, wohingegen bei den Tamarinen auch im Unterkiefer die Eck- die Schneidezähne überragen (NAPIER and NAPIER, 1967). Die 300 - 500 g schweren und etwa 20 cm großen Tamarine der Spezies *Saguinus fuscicollis* leben als tagaktive Tiere in den Wäldern Südamerikas in Familien von 2 - 7 Individuen. Auch wird temporär ein friedliches Zusammenleben mehrerer Familien in einer Gruppe beobachtet. Als Allesfresser ernähren sie sich vorwiegend von Früchten und Insekten, wobei sie sich fast den ganzen Tag mit dem Fangen der Insekten beschäftigen. Als Nahrung dient den Affen außerdem Baumharz; den Wasserbedarf decken sie durch Früchte und Regenwasser auf den Blättern (IZAWA, 1978; YONEDA, 1984). Sie halten sich vor allem in den niedrigen Schichten des Waldes auf, in 2-10 m Höhe über dem Erdboden. Ihr Verhalten bei der Nahrungsaufnahme ist durch nervöses Hin- und Herspringen und vorsichtiges Umherschauen gekennzeichnet; dies ist besonders auffällig im Vergleich zu anderen Krallenaffenspezies (IZAWA, 1975). Die Tiere haben laut GARBER (1986) ein relativ geringes Darmvolumen und eine hohe Stoffwechselrate. Sowohl männliche als auch weibliche Tiere sind ab etwa 12 Monate geschlechtsreif. Die Weibchen gebären ein- bis

zweimal pro Jahr, wobei Zwillingsgeburten vorkommen, jedoch nicht so häufig wie bei den Marmosets.

Krallenaffen werden vielfach in der medizinischen Forschung eingesetzt, da sie sich durch die nahe Verwandtschaft zum Menschen, sowohl bezüglich Anatomie und Verhalten als auch in Bezug auf biochemische Prozesse, besonders dazu eignen. So sind sie für eine Vielzahl humanpathogener Viren und Bakterien empfänglich. Weitere Vorteile bieten die relativ einfache Handhabung und Versorgung und die in Gefangenschaft hohe Reproduktionsrate. Speziell Marmosets und Tamarine werden in der Virologie, Immunologie, Teratologie, Reproduktionsbiologie und anderen Forschungsgebieten eingesetzt. Besonders geeignet erweisen sie sich als Versuchstiere in der Hepatitis- und Krebsforschung.

Da nur gesunde Tiere reproduzierbare Ergebnisse für die Forschung liefern, ist eine bedarfsgerechte Ernährung erforderlich. Besonders eine ausreichende Vitamin C-Versorgung ist notwendig, da Streß und Krankheit den Vitamin C-Stoffwechsel beeinflussen im Sinne eines erhöhten Metabolismus und damit eines erhöhten Bedarfs. Deutliche Unterschiede im Vitamin C-Stoffwechsel zweier so nahe verwandten Krallenaffenspezies wurden festgestellt: Die Serumascorbatspiegel von *Saguinus fuscicollis*-Tieren lagen bei gleicher Haltung und Fütterung (2000 ppm Vitamin C in der Trockenmasse) um ca. 75 % niedriger als bei *Callithrix jacchus* (KERN, 1986). Beide Spezies verstoffwechselten die Ascorbinsäure unter Streßbedingungen vermehrt zu CO_2 (GEYER, 1987).

Ziel der Untersuchungen war es, unter anderem die Ergebnisse vorangehender Untersuchungen zu erhärten, besonders im Hinblick auf die vermehrte $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation unter Streßbedingungen, im Gegensatz zu streßfreien Bedingungen. Darüberhinaus sollten Aufschlüsse darüber gezogen werden, inwiefern sich die streßanfälligeren Krallenaffenspezies *Saguinus fuscicollis* von den Marmosets (*Callithrix jacchus*) im Vitamin C-Stoffwechsel unterscheidet, unter anderem im Hinblick auf die Zusammensetzung der Vitamin C-Metaboliten im Urin, und ob sich daraus Unterschiede im Vitamin C-Bedarf erkennen lassen.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1 Vitamin C-Biosynthese in der Evolution

Die Fähigkeit zur Vitamin C-Biosynthese nahm ihren Anfang in der Niere von Amphibien und Reptilien und wurde übertragen auf die Leber bei den Säugetieren (CHATTERJEE, 1973). Der Übergang von Niere auf Leber war bedingt durch die Entwicklung von Temperaturregulationsmechanismen beim Säuger, der neue Syntheseort mußte dem Leben auf trockenem Land und der Notwendigkeit der Ionenregulation Genüge leisten (OMAYE et al., 1982). Die Synthesefähigkeit bildete sich letztlich wieder zurück beim Meerschweinchen, bei einigen Vögeln und fliegenden Säugern, beim Affen und dem Menschen. Außerdem sind auch alle untersuchten Insekten, Weichtiere und Fische nicht zur Synthese befähigt. Die Ursache liegt in einem Mangel an L-Gulon-Lakton-Oxidase (GLO), welches den letzten Schritt in der Vitamin C-Synthese aus Glucose katalysiert (CHATTERJEE, 1973). Dieser Enzymmangel wird als Gendefekt interpretiert, d.h. es fehlt das den Proteinanteil kodierende Gen (SATO and UDENFRIEND, 1978). Möglicherweise hat eine Genmutation stattgefunden in der Entwicklung vom Säuger zum Primaten (CHATTERJEE, 1973). Weiterhin sollen den obengenannten Spezies die Enzyme Gulon-säurelactonreduktase und die Aldonolactonase fehlen, welche auch für die Vitamin C-Synthese notwendig sind (BÄSSLER und LANG, 1981). Bestimmte Stoffwechseleigenschaften von Vitamin C-abhängigen Tieren, wie verlängerte biologische Halbwertszeit und Aufnahme von Vitamin C mittels eines aktiven Transportsystems im Darm, im Gegensatz zur passiven Diffusion bei Vitamin C-autotrophen Spezies, stellen möglicherweise eine Kompensation für den Eigensyntheseverlust dar (GINTER, 1979; DEGKWITZ, 1985). Innerhalb der Klasse der Säugetiere gibt es bezüglich der Vitamin C-Synthese vier verschiedene Gruppen: Tiere, die Ascorbinsäure nur in der Niere synthetisieren (Prototheria, Monotremata = eierlegende Säuger), entsprechend der primitiven Stufe der Reptilien; Spezies, die sowohl in Leber als auch Niere synthesesfähig sind (Marsupialia, Paramelina = Beuteltiere), möglicherweise ein Zwischenstadium in der Entwicklung; weiterhin Säugtiere, die nur in der Leber synthetisieren (Mehrheit der Säuger) und letztlich diejenigen, die nicht mehr zur Synthese befähigt sind, wie Mensch, Affe und Meerschweinchen (BIRNEY et al., 1979). Untersuchungen von Leberzellen der Halbaffen (Prosimiae), Spitzhörnchen, (Tupaia gills; Fam. Tupaiidae, werden zur Zeit nicht mehr den Halbaffen zugeordnet) und Plumploris (Nycticebus coucang; Fam. Lorisidae) (ELLIOT et al., 1966). Galago und Potto (Fam. Lorisidae), ergaben GLO-Aktivität, womit diese Tiere als Vitamin C-autotroph gelten. Bei den echten Affen (Simiae)

dagegen, wie Rhesusaffe (*Macaca mulatta*; Fam. Cercopithecidae), Totenkopffaffe (*Saimiri sciureus*; Fam. Cebidae) (LEHNER, 1968), Kapuzineraffe (*Cebus fatuellus*; Fam. Cebidae), Klammeraffe (*Ateles geoffroy*; Fam. Cebidae) und Schimpanse (*Pan troglodytes*; Fam. Pongidae), wurde keine Enzymaktivität in Leberhomogenaten nachgewiesen (NAKAJIMA et al., 1969). Gleiche negative Ergebnisse erzielten Untersuchungen bei Vertretern der Familie Callitrichidae, wie dem Lisztäffchen (*Saguinus oedipus oedipus*) und dem Schnurrbartamarin (*Saguinus mystax*) (YESS and HEGSTED, 1967). Auch für *Callithrix jacchus*, ein Vertreter der gleichen Familie, ist Vitamin C ein essentieller Nahrungsfaktor (KERN, 1986). NAKAJIMA und Mitarbeiter (1969) schließen auf einen Verlust der Vitamin C-Synthesefähigkeit in der Entwicklung vom Halbaffen zum Affen.

Neuerdings bewiesen POLLOCK and MULLIN (1987) die enge genetische Verwandtschaft von *Tarsius bancanus*, zur Primatenunterordnung der Prosimiae, Fam. Tarsiidae gehörig, mit den echten Affen, da in Analysen von Leber- und Nierenproben keine GLO-Aktivität nachgewiesen werden konnte; alle anderen untersuchten Lemuridae und Tarsiidae erwiesen sich als Vitamin C-autotroph.

2.2 RESORPTION, TRANSPORT, VERTEILUNG

Mit dem Verlust der Vitamin C-Synthesefähigkeit hat sich auch der Absorptionsmechanismus für Ascorbinsäure im Darm geändert. So liegt bei den Spezies ohne Vitamin C-Eigensynthese, wie Mensch und Meerschweinchen, ein aktiver, sättigbarer, Na^+ -abhängiger, elektroneutraler, Carrier-vermittelter Transportmechanismus vor (STEVENSON, 1974; TOGGENBURGER et al., 1981). Vitamin C-autotrophe Tiere, wie Hamster und Ratte, weisen einen passiven Absorptionsmechanismus auf (SPENCER et al., 1963).

Eine physiologische orale Aufnahme von 180 mg Vitamin C/Tag führt beim Menschen zu einer Resorptionsrate von 80 - 90 % (KALLNER et al., 1977), wobei die intestinale Absorption mit steigender Zufuhr abnimmt (HORNIG et al., 1980). Unter hohen Dosen, bis zu 12 g/Tag, sinkt sie auf 16 % ab (KÜBLER und GEHLER, 1970). Ascorbinsäure zirkuliert im Blut u.a. als freies Anion. Es wird in der Niere, abhängig von der Plasmakonzentration, glomerulär filtriert und tubulär reabsorbiert (FRIEDMAN et al., 1940). In Form der Dehydroascorbinsäure (oxidierte Form) wird Vitamin C durch Diffusion in neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Erythrozyten (HORNIG et al.,

1971), als Ascorbinsäure dagegen mittels eines aktiven, sättigbaren Mechanismus in Nebenniere, Hypophyse, Gehirn und Augenlinse aufgenommen. Dies wurde an verschiedenen Spezies dargestellt (HORNIG et al., 1973; MOSER, 1987). Höchste Ascorbinsäurekonzentrationen findet man beim Menschen in Nebenniere und Hypophyse (30 - 50 mg/100 g Naßgewebe). Hohe Konzentrationen werden auch in Leber, Milz und Gehirn (10 - 15 mg/100 g Naßgewebe) nachgewiesen, welche aufgrund ihrer größeren Organmasse weit mehr zum Körperpool an Ascorbinsäure beitragen als Nebenniere und Hypophyse. Die Ascorbatverteilung in den Geweben von Meerschweinchen und Ratte sind denen des Menschen vergleichbar (HORNIG, 1975).

2.3 FUNKTIONEN

Die zahlreichen physiologischen Funktionen der Ascorbinsäure spielen sich auf molekularer Ebene ab. So dient sie bei verschiedenen Hydroxylierungsreaktionen als Kofaktor. In der Prophylaxe von Skorbut, der Vitamin C-Mangelkrankheit, ist sie für die Hydroxylierung von Prolin und Lysin verantwortlich und damit für die strukturelle Stabilisierung des Kollagens (BARNES, 1975; MYLLYLÄ et al., 1978). Wahrscheinlich fungiert sie dabei als Reaktivator der Prolin- und Lysin-Hydroxylasen durch Reduzierung von Fe^{3+} zu Fe^{2+} (De YONG et al., 1982).

Bei Diabetes mellitus sind sowohl Plasma- als auch Gewebs-Vitamin C-Konzentrationen erniedrigt, was zu einem Aktivitätsabfall der Prolylhydroxylasen bei diabetischen Ratten führt. Daraus schließen Mc LENNAN et al. (1988), daß eine Vitamin C-Therapie die mit der Zuckerkrankheit einhergehenden Abnormitäten in der Kollagensynthese verhindern kann. Zahlreiche Xenobiotica und viele toxische Metabolite benötigen für ihre Entgiftung und Ausscheidung eine chemische Modifizierung, wobei Hydroxylierungsreaktionen eine zentrale Rolle spielen. Die mischfunktionellen Oxidasen in den Lebermikrosomen sind für diese Reaktionen wichtige Katalysatoren. Unter Vitamin C-Mangel fiel die Aktivität der mischfunktionellen Oxidasen der Leber und der Gehalt an Cytochrom P₄₅₀ signifikant ab (ZANNONI et al., 1978). Auch die Synthese von Kortikosteroiden in der Nebenniere beinhaltet Vitamin C-abhängige Hydroxylierungsreaktionen (KITABCHI, 1967; GREENFIELD et al., 1980). Ascorbinsäure dient als Elektronendonator im Katabolismus von Tyrosin (LA DU and ZANNONI, 1961), Folsäure (STOKES et al., 1975) und Histamin (CLEMENTSON, 1980).

Weiterhin ist Vitamin C für die intestinale Eisenabsorption von Bedeutung, wobei Vitamin C und Eisen in vielen Stoffwechselprozessen synergistische Wirkungen zeigen, so daß sich auch Mangelsymptome gegenseitig verstärken (HALLBERG, 1981). Die Biosynthese von Carnithin aus Lysin und Methionin ist Vitamin C-abhängig (BROQUIST, 1982).

In seiner Eigenschaft als Reduktionsmittel dient Ascorbinsäure als Fänger von freien Radikalen und schützt somit zelluläre Biopolymere einschließlich des genetischen Materials. Damit hat sie Bedeutung in der Prophylaxe von Arteriosklerose und ischämischen Herzerkrankungen, für deren Pathogenese ebenfalls freie Radikale mitverantwortlich sind (HOFFMANN-LA ROCHE, 1988). Aufgrund seiner Funktion als Radikalfänger bzw. Antioxidans schützt Ascorbinsäure die Netzhaut des Auges, wo hohe Vitamin C-Konzentrationen vorliegen, vor lichtbedingten Verletzungen (TSO, 1987).

In der Therapie von Krebs gilt Vitamin C als sehr umstritten, doch in der Prophylaxe ist seine Bedeutung durch die oben erwähnten Eigenschaften beträchtlich. Außerdem kann es die Bildung von Nitrosaminen, einer großen Gruppe von Kanzerogenen, die z.B. in der Pathogenese von Magenkrebs relevant sind, verhindern (MIRVISH et al., 1972).

Ebenfalls umstritten ist die Rolle, die Vitamin C bei Immunreaktionen des Organismus spielen soll. Seine Beteiligung an der Migration und Phagozytose von Makrophagen und Leukozyten, wo hohe Ascorbinsäurewerte vorliegen, gilt als erwiesen, eine Beteiligung an der Antikörper- und Komplementproduktion jedoch als nicht gesichert. Übereinstimmung herrscht darin, daß zusätzliche Vitamin C-Aufnahme zwar keine Infektionen, besonders Erkältungskrankheiten, verhindern, jedoch die Schwere der Symptome lindern und die Erkrankungsdauer verkürzen kann (PAULING, 1970a; THOMAS and HOLT, 1978). Keinen Einfluß von Ascorbinsäure auf die humorale, sondern nur auf die zellvermittelte Immunität bei Mäusen zeigen auch SIEGEL and MORTON (1977). Verminderte Ascorbinsäurespiegel bei entzündlichen und allergischen Erkrankungen und damit einhergehender Funktionseinbuße in der Beweglichkeit polymorphnuclearer Leukozyten rechtfertigen nach Ansicht von OBERITTER and SCHMIDT (1985) die therapeutische Anwendung. Robert F. CATHCART (1984) vertritt sogar die Hypothese, daß massive Dosen von Vitamin C (50-200 g über 24 Stunden) die Symptome von AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) im Prodromalstadium unterdrücken und die Empfänglichkeit für Sekundärinfektionen markant reduzieren können, wobei Vitamin C möglicherweise die initial einsetzende T-Helferzellsuppression verhindert. Demgegenüber bestreitet RICHARDSON (1985, 1986) den Einsatz von hohen Vitamin C-Dosen in der Therapie von Krankheiten mit geringer Streßtoleranz, wie Krebs oder Aids,

da es seiner Meinung nach durch hohe Vitamin C-Aufnahme zur Immunsuppression kommt. In Streßversuchen mit Mäusen, die hohe tägliche Vitamin C-Gaben erhielten, wurden signifikant erhöhte Plasmacortisolspiegel aufrechterhalten, die zu einer extremen Lymphozytopenie führten. Ein Anstieg der Serumspiegel von Schilddrüsenhormonen, vor allem von T_4 , bei hoher Vitamin C-Aufnahme, führt zu einer Steigerung des Grundumsatzes und kann somit möglicherweise zur Abwehrsteigerung des Körpers bei Infektionen dienen (DEGKWITZ, 1987). Hinweise auf eine mögliche positive Beeinflussung des Plasmacholesterinspiegels, im Sinne einer Erhöhung des Cholesterinkatabolismus, durch ausreichende Vitamin C-Versorgung, geben einige Untersuchungen. So zeigten Marmosets unter marginaler Vitamin C-Versorgung innerhalb von 1-4 Monaten deutliche Hypercholesterinämie (MC INTOSH et al., 1981).

Bei aus freier Wildbahn gefangenen Pavianen erzeugte der Streß der Gefangennahme einen Abfall des Vitamin C-Serumspiegels und gleichzeitig einen Anstieg des Serumcholesterinspiegels; durch erhöhte Vitamin C-Aufnahme im Anfangsstadium der Gefangenschaft konnte der Serumcholesterinspiegel signifikant gesenkt werden. Damit übt Vitamin C unter Streßbedingungen einen hypocholesterämischen Effekt aus (KOTZE, 1975). Rattenmutanten mit erblichem Defekt in der Vitamin C-Synthese zeigten Abnormalitäten im Fettstoffwechsel im Sinne einer Veränderung der einzelnen Lipidfraktionen zueinander, was als einer der Risikofaktoren für die Entstehung der Arteriosklerose gilt (KONO et al., 1987). Auch bei Meerschweinchen mit chronischem Vitamin C-Mangel wurden arteriosklerotische Intimaverdickungen und endotheliale Läsionen der Blutgefäße festgestellt (WILLIS, 1953; SULKIN and SULKIN, 1975). Beim Menschen jedoch hat Vitamin C nur dann einen senkenden Einfluß auf den Plasmacholesterinspiegel, wenn hohe initiale Serumcholesterinkonzentrationen vorliegen (GINTER et al., 1977).

2.4 VITAMIN C - BEDARF VON MENSCH UND NICHTMENSCHLICHEN PRIMATEN

Die Bedarfsempfehlungen in der Literatur für den Vitamin C-Bedarf variieren sehr stark. Das liegt daran, daß unterschiedliche Überlegungen angestellt werden, je nachdem, ob nur die Mangelerkrankung Skorbut verhindert werden, oder ob die Zufuhr der Erhaltung optimaler Gesundheit dienen soll. Mittlerweile steht aber fest, daß Ascorbinsäure nicht nur der Skorbutprophylaxe dient, sondern noch vielfältige andere Funktionen im

Organismus erfüllt, die bei Mangelsituationen beeinträchtigt sind (s. 2.3). Zur Erfüllung dieser Aufgaben ist eine weit höhere Zufuhr notwendig als zur bloßen Skorbutprävention (HORNIG et al., 1983). In den Industrieländern kommt Skorbut mit den klassischen Symptomen wie Zahnfleischbluten, langsame Wundheilung und Hyperkeratose nur noch äußerst selten vor, doch zeigt sich beginnender Vitamin C-Mangel bereits in Symptomen wie Appetitverlust, Mattigkeit, Schlafstörungen und geringer Widerstand gegen Infektionen (HOFFMAN-LA ROCHE, 1983). Für die Untersuchung des Vitamin C-Status und damit letztlich der Bestimmung des Vitamin C-Bedarfs, werden verschiedene Parameter herangezogen: Zeichen des klinischen Mangels, Plasma- bzw. Blutspiegel und Leukozytenkonzentration von Ascorbinsäure und kinetische Studien in vivo, in denen der Körperpool definiert ist. Der Bedarf des Menschen zur Verhinderung von Skorbut liegt zwischen 5 mg-10 mg/Tag (BAKER et al., 1969), was einem Körperpool von 300 mg Ascorbinsäure entspricht; d.h. bei Unterschreiten von 300 mg (BAKER et al., 1971a) wurden bei einem Abfall der Vitamin C-Leukozytenkonzentration unter $2 \mu\text{g}/10^8$ Zellen (OLSON and HODGES, 1987) klinische Symptome des Skorbut beobachtet. Skorbut konnte durch tägliche Gaben von 6-10 mg Vitamin C über 3 Monate hinweg geheilt werden (HODGES et al., 1971). Blutplasmakonzentrationen von unter 0,2 mg Ascorbinsäure/100 ml gelten als gefährlich, Werte von 0,8 mg/100 ml als wünschenswert (SAUBERLICH, 1975).

Die zum Erreichen einer bestimmten Blutkonzentration benötigte Vitamin C-Zufuhr variiert von Mensch zu Mensch, doch laut KALLNER et al. (1979) bedürfen 95 % der Bevölkerung einer täglichen Menge von 100 mg Vitamin C zur sicheren Aufrechterhaltung einer Konzentration von 0,8 - 0,9 mg/100 ml Plasma. Dieser Plasmawert entspricht der Nierenschwelle und zeigt einen Körperpool von 20 mg/kg KGW an. Die genannte Empfehlung liegt deutlich über den RDA (Recommended Dietary Allowances) der National Academy of Sciences von 60 mg/Tag (LEVINE and MORITA, 1985) wobei diesem Wert nur die Verhinderung klinischer Mangelerscheinungen zugrunde liegt. Unter bestimmten Lebensbedingungen steigt der Vitamin C-Bedarf allerdings an, beispielsweise ist für Raucher eine Aufnahme von 140 mg/Tag erforderlich, um Nichtraucher vergleichbare Plasma- und Körperpoolkonzentrationen zu erreichen, da bei Rauchern der Vitamin C-Stoffwechsel beschleunigt sein soll (KALLNER et al., 1981). Auch schwangere und stillende Frauen benötigen zusätzlich Vitamin C, vor allem wenn sie rauchen oder trinken (RIVERS and DEVINE, 1975). Übermäßiger Alkoholgenuß (FAZIO et al., 1981) sowie die Einnahme von oralen Kontrazeptiva oder Aspirin (OVESEN, 1979), führen ebenfalls zur Steigerung des Ascorbinsäure-Bedarfs. Als weitere Risikogruppe mit erhöhtem Vitamin C-Bedarf gelten ältere Menschen, vor allem

Bewohner von Altersheimen, da langes Warmhalten oder Verkochen der Speisen zur Verminderung des Vitamin C-Gehalts führt. Zahnprobleme verhindern oft, daß ausreichend Rohkost aufgenommen wird oder Magen-Darm-Erkrankungen beeinträchtigen die Resorption (BRUBACHER und SCHLETTWEIN - GSELL, 1971).

Aufgrund der Tatsache, daß ein Vitamin C-autotrophes Tier wie die Ratte 26-59 mg Vitamin C/kg KGW/Tag produziert (SALAMAN and STUBBS, 1961), was, pro kg KGW berechnet, ungefähr 2-4 g/Tag bei einem erwachsenen Menschen entspräche, fordert PAULING (1970b) sogar die Einnahme von 2 g-Dosen/Tag. OMAYE et al. (1982) bezweifeln jedoch mit Recht die Übertragbarkeit der Werte von der Ratte auf den Menschen ohne Berücksichtigung des metabolischen Körpergewichts, wonach die Aufnahme "nur" 0,5 - 1,1 g für einen erwachsenen Menschen (70 kg) betragen würde. TSAO and SALIMI (1984) erwägen die Existenz eines "Rebound-Effect" im Ascorbinsäurestoffwechsel des Menschen, wodurch es bei Aufnahme hoher Vitamin C-Dosen zur Konditionierung des Vitamin C-Stoffwechsels kommt, d.h. zur vermehrten Induktion von Ascorbinsäure-metabolisierenden Enzymen. Eine anschließend niedrige Vitamin C-Aufnahme bewirkt dann, daß das Vitamin durch die hohe Konzentration an Enzymen in Metabolite umgesetzt wird und seine Konzentration in Blut und Gewebe abnormal abfällt, und zwar tiefer als sonst bei niedriger Aufnahme. Eine ähnliche Konditionierung wird bei Meerschweinchen im Uterus beobachtet, wobei der Vitamin C-Bedarf der Nachkommen von Meerschweinchen, die während Trächtigkeit und Laktation mit hohen Vitamin C-Dosen versorgt wurden, signifikant anstieg (NANDI et al., 1977). OMAYE et al., (1988) empfehlen daher Menschen mit langdauernder hoher Vitamin C-Zufuhr, bei Umstellung auf niedrigere Dosen dies Schritt für Schritt und nicht abrupt vorzunehmen, um eventuelle Mangelsituationen aufgrund dieses "Rebound-Effect" zu vermeiden.

Die meisten wildlebenden nicht-menschlichen Primaten nehmen über 70 % ihrer Nahrung in Form von Pflanzen auf, die zum Teil sehr hohe Vitamin C-Gehalte aufweisen, wie z.B. Vertreter der Familie der Moraceae, wie *Ficus yoponensis* (585 mg Vitamin C/100 g Frischgewicht; 2340 mg Vitamin C/100 g Trockengewicht) oder der Familie der Leguminosae, wie *Platypodium elegans* (212 mg Vitamin C/100 g Frischgewicht; 469 mg Vitamin C/100 g Trockengewicht). Dadurch ist ihre Vitamin C-Aufnahme oft weit höher als die des Menschen. So wurde bei Feldstudien beobachtet, daß ein 7 kg-schwerer Brüllaffe (*Alouatta palliata*) durch seinen täglichen Blätter- und Früchtekonsum von 400 g bzw. 600 g mit einem darin enthaltenen Ascorbinsäuregehalt von durchschnittlich 334 mg bzw. 279 mg auf eine Vitamin C-Aufnahme von 614 mg oder 88 mg/kg KGW kommen kann (MILTON and JENNESS, 1987). Auch bei Gorillas wurde

eine Aufnahme von 4,5 g Ascorbinsäure/Tag beobachtet, was 20-30 mg/kg KGW und Tag entspricht (BOURNE, 1949). Da viele der Pflanzen, die von Affen gefressen werden, auch toxische Komponenten enthalten, wie Terpene, wird vermutet, daß diese Pflanzen die Tiere ausreichend mit Vitamin C versorgen, um damit paradoxerweise eine effiziente Entgiftung zu ermöglichen (MILTON and JENNESS, 1987). Um Skorbut bei Makaken unter streßfreien Bedingungen zu verhindern, sollte eine tägliche Vitamin C-Aufnahme von 3-6 mg/kg KGW gewährleistet sein (TILLOTSON and O'CONNOR, 1980). Der Vitamin C-Bedarf von Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*) wird mit 10 mg/kg KGW und Tag angegeben (LEHNER et al., 1968), der von Grünen Meerkatzen (*Cercopithecus aethiops*) unter Streßbedingungen mit 20 mg/kg KGW (DE KLERK et al., 1973a). Für Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) postulieren MACHLIN et al. (1979) einen Ascorbinsäurebedarf von 10 mg/kg KGW. Laut BRACK (1984) liegt die Erhaltungsdosis von Affen bei ca. 4 mg Vitamin C/kg KGW und Tag, die therapeutische Dosis dagegen bei 25 mg. Der Minimalbedarf für gesunde adulte Krallenaffen der Spezies *Callithrix jacchus* wurde mit ca. 15 mg Vitamin C/kg metabolischen Körpergewicht und Tag ermittelt. Die optimale Versorgung liegt vermutlich bei 50-60 mg/kg KGW und Tag. Für die Krallenaffenspezies *Saguinus fuscicollis* dagegen ist diese Angabe eher zu niedrig (KERN, 1986).

2.5 METABOLISMUS

Der Abbau der Ascorbinsäure verläuft zunächst durch enzymatische und nicht-enzymatische Prozesse über ihre Oxidation zu Dehydroascorbinsäure. Dieser Schritt ist reversibel, Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure bilden ein Redoxsystem, und die Dehydroascorbinsäure besitzt damit volle Vitaminwirksamkeit. Aus der Dehydroascorbinsäure entsteht anschließend durch irreversible enzymatische Aufspaltung des Laktonrings über eine Delaktonease die relativ instabile 2,3-Diketogulonsäure ohne Vitaminwirksamkeit. Aus dieser entstehen entweder durch die Diketogulonase, eine Decarboxylase, CO_2 , L-Xylonsäure und L-Lyxonsäure, oder, auf einem anderen Weg, Oxalsäure und Threonsäure (HORNIG et al., 1983). Der Katabolismus verläuft speziesspezifisch und wurde bei Mensch, Affe, Meerschweinchen und Ratte mit $1\text{-}^{14}\text{C}$ -markierter L-Ascorbinsäure untersucht, wobei die Aktivität in den drei Fraktionen Atemluft, Urin und Kot bestimmt wurde. Die Hauptausscheidung erfolgt bei Ratte (CURTIN and KING, 1955) und Meerschweinchen (BURNS et al., 1951) über die

Exhalation als $^{14}\text{CO}_2$, wohingegen die Exkretion über Urin und Kot nur zu einem geringen Teil erfolgt. Beim Menschen ist der Haupteliminationsweg der Urin, wohingegen die Oxidation zu CO_2 sekundär und die Ausscheidung über den Kot unbedeutend ist (KALLNER et al., 1982). Hauptsächlich Ausscheidungswege beim Affen sind der Urin und die Exhalation als CO_2 , wobei diese von der jeweiligen psychischen Verfassung der Tiere abhängig ist (TILLOTSON, 1978).

Beim Meerschweinchen wurden nach intraperitonealer Injektion einer $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure 66 % der Aktivität in Form von $^{14}\text{CO}_2$, 10 % im Urin und weniger als 1 % im Kot innerhalb von 10 Tagen wiedergefunden; 30 % - 40 % der Dosis wurden allein innerhalb der ersten 24 Stunden zu $^{14}\text{CO}_2$ verstoffwechselt (BURNS et al., 1951). Orale Verabreichung von markierter Ascorbinsäure bestätigt diese Ergebnisse. Da das Maximum der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation bereits nach einer halben Stunde auftrat und damit früher als maximale Aktivitätsspiegel in Plasma und rasch durchbluteten Organen, wie Lunge, Leber und Nieren (erst nach 1,5 Stunden), vermuten HORNIG and HARTMANN (1982), daß die Ascorbinsäure bereits bei der ersten Passage durch die Darmwand abgebaut wird, bevor sie den Kreislauf erreicht; einen Abbau im sauren Darmmilieu halten sie für unwahrscheinlich. Versuche, eine enzymatische präsystemische Verstoffwechselung zu beweisen, gelangen jedoch nicht: bei in vitro-Untersuchungen von SCHMIDT et al. (1983) wurde nach Zugabe von Ascorbinsäure weder in Homogenaten von Magen, Darm und Leber, noch von Dünndarmflora, CO_2 in nennenswerten Beträgen freigesetzt. Aus der verstärkten CO_2 -Entwicklung aus Leberhomogenaten nach Zugabe von Dehydroascorbinsäure schließen die Autoren, daß die CO_2 -Produktion in der Leber erfolgt und die Oxidation zu CO_2 erst nach Abbau zu Dehydroascorbinsäure und 2,3-Diketogulonsäure stattfindet. Das dazu nötige Enzym, die Dehydroascorbinsäuredehydrogenase, wurde in der Leber von Ratte und Meerschweinchen nachgewiesen (KAGAWA, 1961; KAGAWA and TAKIGUCHI, 1962). Die Verabreichung von ^{14}C -Dehydroascorbinsäure und 2,3-Diketogulonsäure an Meerschweinchen und Ratte erzielte noch höhere CO_2 -Raten, was bedeutet, daß der Abbau der Ascorbinsäure bei diesen Tieren über diese Substanzen verläuft (DAYTON et al., 1966). Nach oraler Applikation einer $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure wurden beim Meerschweinchen nur 8 % der Aktivität im Urin und 3 % im Kot wiedergefunden (HORNIG and HARTMANN, 1982). Die Anteile der Hauptmetaboliten im Urin betrugen jeweils 2-3 % für Ascorbinsäure, Dehydroascorbinsäure und 2,3-Diketogulonsäure und 7 % für Oxalsäure. In geringeren Mengen wurden noch andere Metabolite nachgewiesen, so die 2-O-Methylascorbinsäure und die Saccharoascorbinsäure bei der

Ratte sowie Ascorbinsäure-2-sulfat bei Ratte und Meerschweinchen (HORNIG et al., 1983). Stoffwechseluntersuchungen mit Hilfe der Isotopenexkretionsmethode liegen auch vom Menschen und von nichtmenschlichen Primaten vor. Makaken (*Macaca fascicularis*), die an alle Versuchsbedingungen durch ein 7-tägiges Training gewöhnt waren, exhalieren 2-5 % der Aktivität einer markierten Ascorbinsäure nach oraler Applikation in Form von $^{14}\text{CO}_2$. Waren sie allerdings nicht an die Versuchsbedingungen gewöhnt, betrug der $^{14}\text{CO}_2$ -Anteil 20-90 % der verabreichten Dosls. Die Oxidationsrate zu $^{14}\text{CO}_2$ war dabei weder durch den Vitamin C-Gehalt der Diät noch durch den Vitamin C-Status der Tiere beeinflussbar (TILLOTSON, 1978). Bei intravenöser Injektion von markierter Ascorbinsäure werden von Mensch und Makaken nur 1 % der Dosis als $^{14}\text{CO}_2$ ausgeschieden, woraus BAKER et al., (1975) schließen, daß CO_2 oder Ascorbinsäuremetabolite, aus denen CO_2 freigesetzt wird, während der Darmpassage entweder durch chemischen Abbau oder durch mikrobielle Zersetzung entsteht. In Untersuchungen von ABT et al. (1962) wurden nach intramuskulärer Injektion von ^{14}C -Ascorbinsäure bei Rhesus-Affen 50 % der verabreichten Aktivität in Form von $^{14}\text{CO}_2$ über einen Zeitraum von 15 Tagen ausgeschieden. Über den Kot schieden Makaken 2,5 % der gegebenen Dosis in den ersten 24 Stunden nach Applikation aus, wobei die Exkretion nur bei sehr hoher zusätzlicher Vitamin C-Gabe noch auf 4,4 % gesteigert werden konnte (TILLOTSON and O'CONNOR, 1981). Beim Menschen kommt es erst dann zu einer nennenswerten $^{14}\text{CO}_2$ -Ausatmung, bis zu 10 %, wenn zugleich mit der markierten Ascorbinsäure eine große Einzeldosis Vitamin C verabreicht wird (KALLNER et al., 1985). Ergebnisse von ABT et al. (1963), wobei 25 % einer oral verabreichten Dosis zu $^{14}\text{CO}_2$ verstoffwechselt wurden, konnten durch BAKER et al. (1963) widerlegt werden. Sie stellten fest, daß von einer $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure, die vor der Applikation 36-72 Stunden in wässriger Lösung inkubiert wurde, bis zu 30 % der Aktivität als $^{14}\text{CO}_2$ exhalieret werden, bei der sofortigen Aufnahme nach dem Auflösen jedoch weniger als 0,1 %. Dies bedeutet, daß beim Menschen nur dann hohe $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidungen gemessen werden, wenn die Ascorbinsäure einem in vitro-Zerfall vor der Verabreichung unterliegt. Dies erfolgt durch die Instabilität der Ascorbinsäure in wässriger Lösung. Andererseits berichten HANKES et al. (1974) von Patienten mit Häm siderose und Skorbut, die 47 % einer oral aufgenommenen $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure in Form von $^{14}\text{CO}_2$ ausschieden. Die Autoren vermuten die Existenz eines raschen Decarboxylierungsmechanismus in diesen Patienten, der möglicherweise durch einen hohen Eisengehalt in deren Nahrung bedingt war.

$^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation beim Menschen war bis 8 Stunden nach oraler Applikation der markierten Ascorbinsäure zu messen, wobei das Maximum zwischen der 4. und 5. Stunde auftrat (KALLNER et al., 1985). HANKES et al. (1974) beobachteten dagegen einen Anstieg der $^{14}\text{CO}_2$ -Produktion zwischen der 6. und 13. Stunde nach Applikation. Bei Makaken begann die $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation erst 5 Stunden nach oraler Verabreichung anzusteigen und erreichte erst nach 10 Stunden ein Maximum (TILLOTSON, 1978). Krallenaffen atmen schon wenige Minuten nach oraler Applikation von 1- ^{14}C -Ascorbinsäure $^{14}\text{CO}_2$ aus, wobei die Oxidation zu $^{14}\text{CO}_2$ bei Vitamin C-Hochversorgung (4000 ppm in der Diät) und Gewöhnung an die Versuchsbedingungen niedriger war als bei Marginalversorgung (250 ppm) und Streß bzw. Krankheit (GEYER, 1987). Das Maximum der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation trat nach einer (Saginus fuscicollis) bzw. nach 2 Stunden (Callithrix jacchus) auf. Die sehr früh einsetzende Oxidation zu CO_2 nach oraler Applikation spricht laut GEYER für eine präsystemische Stoffwechselung im Darm oder in der Darmwand. Weitergehende Untersuchungen von SIEMS (1988) bestätigen die Ergebnisse von GEYER. Krallenaffen der Spezies Callithrix jacchus atmeten 11-13 % einer oral gegebenen 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei Gewöhnung an die Versuchsbedingungen als $^{14}\text{CO}_2$ aus und bis zu 50 % der Aktivität unter Streßbedingungen; dies erfolgte jeweils unter der Vitamin C-Hochversorgung von 4000 ppm in der Diät. Die größte $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung war nach 1-3 Stunden erreicht. Auch bei intravenöser Injektion der markierten Ascorbinsäure erfolgte eine zwar geringere, jedoch deutlich ausgeprägte $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation (bis zu 7,5 % innerhalb von 48 Stunden), was, neben einer nicht auszuschließenden präresorptiven CO_2 -Produktion bei peroraler Zufuhr, die systemische Decarboxylierung der Ascorbinsäure nachweist. Der Anteil der mit dem Urin ausgeschiedenen Aktivität ist bei Makaken von der peroralen Vitamin C-Zufuhr abhängig; je höher die aufgenommene Menge, desto mehr Aktivität wird mit dem Urin eliminiert. Bei bedarfsdeckender Vitamin C-Zufuhr werden bei diesen Tieren durchschnittlich 40 % von oral verabreichter 1- ^{14}C -Ascorbinsäure im Urin ausgeschieden (TILLOTSON, 1978). Bei niedriger Vitamin C-Versorgung beträgt der Anteil nichtverstoffwechselter Ascorbinsäure 10-20 %, bei hoher Versorgung (> 10 mg/kg KGW) dagegen 75 % der Aktivität. Der Oxalatanteil beträgt bei Niedrigversorgung 25-48 %, bei Hochversorgung nur noch 7 %. Weitere zwei Metaboliten konnten nicht identifiziert werden (TILLOTSON and MC GOWN, 1981). Etwa 50 % der Aktivität innerhalb von 24 Stunden schieden Rhesus-Affen nach intramuskulärer Injektion der markierten Ascorbinsäure über den Urin aus, davon 18-45 % als unverstoffwechselte Ascorbinsäure, 18-46 % als Dehydroascorbinsäure und 2,3-Diketogulonsäure sowie 20-38 % als Oxalsäure (ABT et al., 1962). Die Nierenschwelle für

Vitamin C liegt bei Krallenaffen bei ca. 1 mg/100 ml Serum (KERN, 1986). Unter marginaler Vitamin C-Versorgung wurden 2-9 %, bei Hochversorgung bis zu 64 % der Aktivität einer 1-¹⁴C-Ascorbinsäure mit dem Urin eliminiert. Bei hoher Vitamin C-Zufuhr erwiesen sich etwa 70 % als unverstoffwechselte Ascorbinsäure, bei geringer Zufuhr dagegen nur noch sehr kleine Mengen. Mit dem Kot wurden 2-22 % der verabreichten Aktivität ausgeschieden (GEYER, 1987). Wie bei GEYER, stellten auch die Untersuchungen von SIEMS (1988) die renale Exkretion als Hauptweg der Ausscheidung von Ascorbinsäure und ihrer Metabolite bei *Callithrix jacchus* dar. Waren die Tiere an die Versuchsbedingungen gewöhnt, erschienen 70-80 % der Aktivität im Harn, ohne Gewöhnung an die Versuchsbedingungen bzw. unter andauernder zusätzlicher Belastung jedoch nur 30-61 %. Sämtliche Versuche wurden unter Vitamin C-Hochversorgung von 4 g Vitamin C/kg Koloniedlät (4000 ppm) durchgeführt, so daß in allen Versuchen relativ hohe Anteile von 57-83 % Ascorbinsäure plus Dehydroascorbinsäure und relativ geringe Anteile von 12-43 % Oxalsäure ermittelt wurden. Die prozentualen Anteile an Oxalsäure lagen in den Streßversuchen höher als in den streßarmen Versuchen. Höchste Beträge von Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure sowie geringste Mengen an Oxalsäure wurden nach intravenöser Injektion der markierten Ascorbinsäure gefunden. Mit dem Kot wurden 2-10 % der Aktivität ausgeschieden. Ebenso wie beim Affen, wird auch beim Menschen Vitamin C vorwiegend renal eliminiert. Die Konzentrationsschwelle für die tubuläre Rückresorption in der Niere liegt zwischen 0,7-0,8 mg Vitamin C/100 ml Plasma (KALLNER et al., 1979). In einem Zeitraum von 10 Tagen wurden 36-45 % einer intravenös applizierten Dosis 1-¹⁴C-Ascorbinsäure mit dem Harn ausgeschieden, wobei der Anteil an unverstoffwechselter Ascorbinsäure 20 %, an Dehydroascorbinsäure 2 %, an Diketogulonsäure 20 % und an Oxalsäure 44 % betrug (HELLMAN and BURNS, 1958). Als weiterer Metabolit im Urin ließ sich Ascorbinsäure-2-sulfat nachweisen (BAKER et al., 1971b). Im Kot wurden weniger als 1 % einer intravenös injizierten Aktivität wiedergefunden (HELLMAN und BURNS, 1958).

2.6 VITAMIN C UND STRESS

Streß wird unter dem Begriff "Allgemeines Anpassungssyndrom" zusammengefaßt. Er stellt die Antwort des Organismus auf unspezifische Reize dar, mit dem Ziel, die Bedingungen der Homöostase wiederherzustellen. Dabei werden drei Stadien

unterschieden: Alarm, Widerstand und Erschöpfung. Zahlreiche biochemische Reaktionen, an denen u.a. Vitamine beteiligt sind, finden vor allem in der anfänglichen Alarmsituation statt (SELYE, 1950; SELYE, 1973). Für die hierbei ablaufenden Vorgänge, wie Blutdruckerhöhung, Atmungssteigerung und Anstieg der Blutglucose, sind die Nebennierenhormone Adrenalin und Noradrenalin verantwortlich (GANONG, 1963). Außerdem kommt es via Hypothalamus (CRF)-Hypophysenvorderlappen(ACTH)-Nebennierenrinde zur Ausschüttung von Glucokortikoiden, die für das Stadium des Widerstands zuständig sind, indem sie unter anderem durch Erhöhung der Gluconeogenese ausreichend Energie für die Abwehr bereitstellen (THAXTON and PARDUE, 1983). Einerseits wird nun Ascorbinsäure für die Katecholaminsynthese benötigt (LEVIN et al., 1960): Die spezifische Aktivität von Tyrosinhydroxylase war in skorbütischen Meerschweinchen herabgesetzt (NAKASHIMA et al., 1972). Außerdem erwies sich die Dopamin- β -Hydroxylase, die die Umwandlung von Tyrosin in Norepinephrin katalysiert, als Vitamin C-abhängig (ENGLARD and SEIFTER, 1986).

Andererseits hat Ascorbinsäure auch eine regulierende Funktion auf die Steroidgenese in den Nebennieren (KITABCHI, 1967). KITABCHI vermutet einen hemmenden Einfluß der Ascorbinsäure auf die Steroidgenese. Nach seiner Meinung muß bei Stress die Ascorbinsäure erst aus den Nebennieren ausgeschüttet werden, bevor die Kortikoloide gebildet und abgegeben werden können. Tatsächlich wird die Ascorbinsäure auch zum größten Teil vor dem Anstieg der Kortikoid-Konzentration in den Nebennieren in deren Venenblut gefunden (LIPSCOMB and NELSON, 1960). Eine Erhöhung der Ascorbinsäurekonzentration in den Nebennieren müßte demnach zu einer Hemmung der Kortikoidsynthese und -abgabe führen. Aufgrund der Tatsache, daß unter Stress der Freisetzung von Kortikosteroiden aus den Nebennieren immer die Freisetzung von Ascorbinsäure vorausgeht und nicht umgekehrt, und der Ascorbinsäureblutspiegel unter Stress signifikant abnimmt, vermutet RICHARDSON (1985, 1986), daß dies ein Anpassungsmechanismus des Körpers an Stress ist, indem der Vitamin C-Spiegel reduziert wird, um das Immunsystem vom immundepressiven Einfluß des Cortisols zu befreien. Seiner Meinung nach kommt es durch hohe tägliche Aufnahme von Vitamin C unter Stressbedingungen zur Aufrechterhaltung von hohen Cortisolplasmaspiegeln, wodurch wiederum das Immunsystem geschwächt wird.

Stress erhöht den Vitamin C-Bedarf, was vermutlich auf einer Beschleunigung des Vitamin C-Katabolismus beruht. Tiere, die Vitamin C selbst synthetisieren können, produzieren bei Stress mehr Vitamin C als physiologischerweise. Vitamin C-abhängige Tiere bilden unter Stressbedingungen vermehrt Vitamin C-Metabolite (TUCKER et al., 1987). Einfluß von Stressoren oder Verabreichung von ACTH führen bei Ratten und

Makaken zur Depletion von Ascorbinsäure in den Nebennieren (BAHN and GLICK, 1954). Unter Vitamin C-Mangel sinkt die Ascorbinsäurekonzentration in den Nebennieren von Meerschweinchen, gleichzeitig steigt die Sekretion von Cortisol ins Blut (ODUMOSU, 1982). Primaten reagieren stark auf Umgebungsstress. So zeigten Grüne Meerkatzen, die aus freier Wildbahn eingefangen wurden, in den ersten Tagen der Gefangenschaft einen signifikanten Abfall in der Vitamin C-Konzentration im Serum. Nach einer Eingewöhnungszeit stieg sie um mehr als das Doppelte an, sank jedoch durch erneuten Stress wieder deutlich ab (DE KLERK et al., 1973a). Bei Makaken führte Stress, der durch die Fesselung an einen Primatenstuhl bedingt war, nach oraler Verabreichung einer $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure zur verstärkten $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation und erhöhter Exkretion der Aktivität mit dem Harn (TILLOTSON and O'CONNOR, 1981). Ebenso wurden bei Pavianen erniedrigte Serumascorbatspiegel in den ersten Tagen der Gefangenschaft gemessen; gleichzeitig war der Serumcholesterinspiegel erhöht. Nach Vitamin C-Supplementierung in verschiedenen hohen Dosierungen war der Abfall der Serumascorbatspiegel in der Gruppe mit niedrigster Versorgung am deutlichsten; zugleich stieg bei diesen Tieren der Serumcholesterinspiegel am stärksten an (DE KERK et al., 1973b).

Gestelgerten Vitamin C-Metabolismus bei Krallenaffen und die vermehrte Stoffwechselung von Ascorbinsäure zu CO_2 unter Stressbedingungen zeigen auch GEYER (1987) und SIEMS (1988).

2.7 RETENTION UND HALBWERTSZEIT

Über den Vitamin C-Stoffwechsel liegen bei verschiedenen Tierarten und dem Menschen kinetische Studien vor. Für diese Stoffwechselkinetik werden Kompartimentenmodelle erstellt, wobei ein Kompartiment als biokinetische Einheit einen Teil des gesamten Verteilungsraumes eines Stoffes im Körper darstellt. Diese biokinetische Einheit kann, muß aber nicht mit morphologischen Strukturen, wie z.B. Geweben, oder anatomischen Einheiten, wie z.B. Organen, übereinstimmen. Mit der Halbwertszeit (HWZ) wird ein Maß für die Aufenthaltsdauer eines Stoffes in einem Kompartiment angegeben. Die HWZ eines Kompartiments ergibt sich aus der Steigung der Retentionskurven einer Einzeldosis dieses Stoffes (DOST, 1968). KALLNER et al. (1982), die für den Menschen ein 3-Kompartimenten-Modell mit unterschiedlichen Halbwertszeiten erstellten, postulieren ein zentrales Kompartiment, von dem die Ascorbinsäure aufgenommen wird

und dann entweder unverstoffwechselt wieder ausgeschieden oder mit zwei weiteren Kompartimenten ausgetauscht wird. Eines davon soll den Ort des Vitamin C-Metabolismus darstellen, das andere die Funktion eines Langzeitspeichers innehaben. Der Ascorbinsäurepool des Menschen beträgt zwischen 10 und 20 mg Vitamin C/kg KGW je nach Vitamin C-Aufnahme. Mit steigender Zufuhr verkürzt sich dessen biologische HWZ von durchschnittlich 30 Tagen bei täglicher oraler Aufnahme von 30 mg Vitamin C auf 10 Tage bei einer Einnahme von 180 mg. Bei Vitamin C-freier Ernährung werden 3 % des Pools pro Tag abgebaut, so daß es nach dreimonatiger Vitamin C-Depletion zum klinischen Erscheinungsbild des Skorbut kommt. Vergleichbar dem Menschen, beschreiben HORNIG and HARTMANN (1982) für den Vitamin C-Stoffwechsel des Meerschweinchens ein Modell mit drei Kompartimenten. Der Ascorbinsäurepool beträgt 54 mg/kg KGW, die biologische HWZ beträgt vier Tage. Aufgrund dieser viel kürzeren HWZ beim Meerschweinchen folgt, daß klinische Zeichen des Skorbut bereits nach 20 Tagen auftreten. Ein Modell mit zwei Kompartimenten wurde von TILLOTSON and O'CONNOR (1981) anhand der ^{14}C -Retention bei Makaken erstellt. Verminderte Vitamin C-Versorgung führte dabei zu einer Verlängerung der biologischen Halbwertszeiten der Kompartimente, durch Einfluß von Streß ließen sich diese verkürzen. Vergleichbare Untersuchungen an Krallenaffen ließen ein Modell mit zwei Kompartimenten entstehen: marginale Vitamin C-Versorgung führte auch hier zu verlängerten Halbwertszeiten, induzierter Streß verkürzte in erster Linie die HWZ des initialen Kompartiments (GEYER, 1987). In weiterführenden Untersuchungen an Krallenaffen der Spezies *Callithrix jacchus* konnte die Existenz von drei Kompartimenten nachgewiesen werden, wobei es hier unter einer Vitamin C-Hochversorgung von 4000 ppm in der Diät zur raschen ^{14}C -Eliminierung der zugeführten 1- ^{14}C -Ascorbinsäure und damit zu kurzen biologischen Halbwertszeiten kam (SIEMS, 1988).

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 MATERIAL UND METHODEN

3.1.1 VERSUCHSTIERE UND HALTUNGSBEDINGUNGEN

Die Versuchstiere wurden aus der Zuchtkolonie des Max von Pettenkofer-Instituts, München, zur Verfügung gestellt. Es handelte sich dabei um folgende drei adulte männliche, gesunde Krallenaffen der Spezies *Saguinus fuscicollis*: Mephisto, geb. 03.09.1983; 360 g KGW; Fitzgerald, geb. 08.10.1983; 400 g KGW; Kasimir, geb. 01.02.1983; 393 g KGW.

Bei einer Versuchsdauer von jeweils 11 Tagen waren die Tiere die ersten 48 Stunden in einer von GEYER (1987) konstruierten Stoffwechselkammer untergebracht, wobei die drei Fraktionen Atemluft, Urin und Kot separat gewonnen werden konnten. Diese Kammer, ein 40 cm hoher Zylinder mit einem Durchmesser von 30 cm aus Plexiglas, ist mit einer Tränkeflasche, einem Futterbehälter und einer Sitzstange versehen. Ein grobmaschiges Drahtnetz trennt den obenliegenden, ca. 21 Liter fassenden, Aufenthaltsbereich des Affen von einem darunterliegenden, trichterförmigen Auffangsystem aus Polyester. Dieses ist mit einem feinmaschigen Gitter versehen, welches Kot und Futterreste zurückhält, die durch eine mit einem Gummistopfen verschließbare Öffnung mittels einer langen Pinzette entnommen werden können. Der Trichter des Auffangsystems mündet über einen Schlauch in eine 200 ml-Plastikflasche, zur Sammlung des Urins. Luft wird durch einen unten an die Kammer befindlichen Stutzen eingesaugt und über einen Kupferrohring mit regelmäßig angebrachten, kleinen Löchern gleichmäßig in der Kammer verteilt. Durch eine Öffnung im Deckel der Kammer, der mit einer Prallplatte versehen ist, um Toträume und axiale Strömungen zu verhindern, wird die Luft wieder abgesaugt. Die Durchströmungsrate der Kammer betrug im Versuch 54 Liter/h, die Einstellzeit wurde auf ca. eine Stunde berechnet. Nach 48 Stunden wurden die Tiere in einen Stoffwechselkäfig für Marmosets (Fa. Tecniplast, Gazzada, Italien) umgesetzt. Diese Käfige, 37 cm breit, 39 cm tief und 51 cm hoch, bestehen aus Sitzstange, Tränkeflasche, Futterbehälter und einem Schlupfkasten mit Maschendrahtboden. Kot, Urin und Futterreste werden über ein Auffang- und Trennsystem separiert gewonnen.

In der versuchsfreien Zeit wurden die Tiere zu zweit in einfachen Stahlkäfigen gehalten. Sämtliche Experimente wurden in der Abteilung für Nuklearbiologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung (GSF) in München-Neuherberg durchgeführt. Die Affen waren dort in einem fensterlosen, vollklimatisierten Stall untergebracht; die Raumtemperatur betrug 25°C, die relative Luftfeuchtigkeit 60 %. Die Beleuchtung erfolgte im 12-Stunden-Rhythmus mit einer Intensität von 500 Lux. Ernährt wurden die Tiere mit einer im eigenen Institut hergestellten Koloniedlät in Pelletform (Rezeptur in Anlehnung an FLURER et al., (1983) mit einem Vitamin C-Gehalt von 0,4 % (4000 ppm) (s. Tab. 1,2,3). Außerdem erhielten sie täglich Banane und Kaubonbons.

3.1.2 VERSUCHSPLANUNG UND -DURCHFÜHRUNG

Mit Hilfe der Isotopenexkretionsmethode wurde der Vitamin C-Stoffwechsel untersucht, wobei den Tieren jeweils peroral 925 kBq bzw. intravenös 370 kBq einer 1-¹⁴C-marklierten Ascorbinsäure verabreicht wurden. Gleich nach Applikation der radioaktiven Dosis wurden die Affen in die Stoffwechselkammer verbracht, so daß nun das CO₂ der Atemluft absorbiert und Kot und Urin in bestimmten Zeitabständen gesammelt werden konnten. Anschließend wurde die Aktivität dieser drei Fraktionen quantitativ bestimmt.

Nach dem Umsetzen in den Stoffwechselkäfig nach 48 Stunden wurde über 9 weitere Tage noch Kot und Urin gesammelt. Unmittelbar danach wurde dem Versuchstier Blut entnommen, um die Aktivität im Serum zu ermitteln.

Dieses Meßschema wurde gewählt, da nach 48 Stunden nur noch geringe Aktivitätsmengen im CO₂ nachzuweisen sind und somit vernachlässigt werden können, ebenso wie nach 11 Tagen die Nachweisgrenze von ¹⁴C in Kot und Urin in etwa erreicht ist.

Mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) wurden im gesammelten Urin die ¹⁴C-aktiven Metaboliten der Ascorbinsäure qualitativ bestimmt. Die 1-¹⁴C-marklierte Ascorbinsäure (Amersham, Braunschweig bzw. NEN, Frankfurt), aufbewahrt bei -20°C, wurde vor der Verabreichung am HPLC auf radiochemische Reinheit überprüft: diese betrug zwischen 91,3 % und 93 % (Versuch V und VI: nur etwa 70 %).

Nach Versuchsende wurde den Tieren eine mit Vitamin C versetzte 10 % Zuckerlösung angeboten, zum "Auswaschen" der noch im Körper verbliebenen Restaktivität. Versuchsbeginn war jeweils Montag, 9⁰⁰ MEZ; zuvor wurde die marklierte Ascorbinsäure

Tabelle 1: Zusammensetzung der Koloniediät

Komponenten	Anteile in %
Maisschrot	25,5
Speisehaferflocken	20,0
Weizenkleie	9,0
Saccharose	13,0
Glucose	2,0
Molkenprotein (72 % Protein in T.S.)	4,0
Sojaproteinkonzentrat (71 % Protein in T.S.)	8,0
Casein (93 % Protein in T.S.)	3,0
Fettkonzentrat (40 %, in Magermilchpulver)	6,0
Sojaöl	3,0
Vitaminvormischung (Vitamin C-frei)	0,2
Bananenaroma	1,5
Vitamin C	0,4
Spurenelementvormischung	0,1
$\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	1,5
CaCO_3	1,5
NaCl	0,6
Cholinchlorid	0,2
DL-Methionin	0,1
Kalziumpropionat	0,4
Summe	100,0

Tabelle 2:

Komponenten der Vitaminvormischung

Anteile in 2 Gramm Vormischung (= pro kg der fertigen Diät)

Retinol	10000	I.E.
Cholecalciferol	2000	I.E.
alpha-D, L-Tocopherolacetat	100	mg
Menadion	2	mg
Thiamin	5	mg
Riboflavin	10	mg
Pyridoxin	10	mg
Niacin	40	mg
Folsäure	4	mg
Ca-D-Pantothenat	20	mg
Cobalamin	50	µg
Biotin	1	mg

Tabelle 3:

Komponenten der Spurenelementvormischung

Anteile in 1 Gramm Vormischung (= pro kg der fertigen Diät)

Fe (Eisenfumarat)	100	mg
Mn (Mangansulfat x H ₂ O)	80	mg
Zn (Zinkacetat x H ₂ O)	80	mg
Cu (Kupferacetat x H ₂ O)	12	mg
Se (Natriumselenit x 5 H ₂ O)	0,5	mg
J (Kaliumjodid)	2,5	mg
F (Natriumfluorid)	5	mg
Co (Cobaltsulfat x 7 H ₂ O)	1	mg
Mg (Magnesiumoxid)	70	mg

aufgetaut und bei peroraler Verabreichung in 4 ml 10 % Glucoselösung, bzw. bei intravenöser Verabreichung in 2 ml Aqua dest., aufgelöst. Die jeweils erforderliche Aktivitätsmenge wurde anschließend in eine 2 ml-Einwegspritze aufgezogen und entweder in die V. femoralis des Affen injiziert oder von dem Tier direkt von der Spritze abgeleckt; dieser Vorgang wurde mit den Tieren vorher geübt. Um Aktivitätsverluste durch Rückstände in der Spritze gering zu halten, wurden bei peroraler Gabe nochmals 2 ml Glucoselösung aus der gleichen Spritze nachgegeben. Trotz dieser Maßnahme, und vor allem bei i.v.-Gabe (hier war kein Nachspülen möglich), verblieb noch Aktivität in der Spritze, die bei den Berechnungen der Wiederfindungsrate berücksichtigt wurde. Die Wiederfindungsrate für den Urin errechnet sich aus den Messungen aller Meßzeiträume von 0-264 Stunden incl. der Kammer- bzw. Käfignachspülungen nach 48 bzw. nach 264 Stunden (Versuch I nur nach 48 Stunden). Die Werte der kumulativen Auftragung ergeben sich aus allen Messungen ohne die Werte der Nachspülungen und liegen somit unter denen der Wiederfindungsrate vom Urin (s. Kapitel 3.2).

Insgesamt wurden 8 Versuche durchgeführt. In den ersten beiden und im letzten Versuch wurden je 925 kBq p.os. und in den Versuchen III und IV je 370 kBq i.v. verabreicht. Diese Versuche erfolgten jeweils unter "streßarmen" Bedingungen, d.h. die Tiere waren an die Umgebung, die Verabreichung der Ascorbinsäurelösung und auch an kurze Aufenthalte in der Stoffwechselkammer gewöhnt worden. Außerdem, um großer Aufregung und damit oft einhergehendem Durchfall vorzubeugen, wurden die Tiere in den ersten vier und im letzten Versuch zu zweit in Stoffwechselkammer und -käfig gesetzt, wobei aber nur einem die radioaktive Dosis verabreicht wurde. Dadurch fiel natürlicherweise mehr Kot und Urin an, was aber die Messungen der ^{14}C -Aktivität nicht beeinträchtigte. In den Versuchen V, VI und VII sollte der Vitamin C-Metabolismus unter psychischer Belastung untersucht werden. Den Tieren wurden wieder je 925 kBq p. os verabreicht. Dabei konnte ein deutlich erkennbarer Streßzustand durch das ungewohnte Alleinsein des jeweiligen Versuchsaffen, erzeugt werden. Zusätzlich wurden die Affen durch die zeitweise Anwesenheit der Person, die diese gewöhnlich aus dem Käfig herausfängt, stark beunruhigt. Diese psychische Belastung äußerte sich in Sträuben der Haare, erhöhter Motilität, Schreien, und vor allem bei Mephisto durch Ausrupfen von Schaumstoff und Silikon in der Kammer.

Die Ergebnisse der Versuche V und VI müssen mit gewissen Einschränkungen betrachtet werden, da die verabreichte 1-¹⁴C-Ascorbinsäure nur eine radiochemische Reinheit von etwa 70 % aufwies: aus diesem Grund konnten auch die Chromatogramme der Urinmetaboliten, die am HPLC erstellt wurden, nicht ausgewertet werden.

Eine Übersicht über die durchgeführten Versuche gibt Tabelle 4.

Tabelle 4: Übersicht Versuchsplanung

Versuch	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Affe	Fitzgerald	Mephisto	Fitzgerald	Mephisto	Fitzgerald	Mephisto	Kasimir	Kasimir
Verabreichte Dosis (kBq)	925	925	370	370	925	925	925	925
Verabreichungsform	p.os	p.os	i.v.	i.v.	p.os	p.os	p.os	p.os
Bedingungen	gewöhnt	gewöhnt ¹	gewöhnt	gewöhnt	psychische Belastung	psychische Belastung	psychische Belastung	gewöhnt ¹

Diät: 4000 ppm

Versuchsdauer: 11 Tage

Stoffwechselkammer: 2 Tage (¹⁴C-Messung in Atemluft, Urin und Kot;

Metabolitenbestimmung im Urin;

außer Versuch V und VI)

Stoffwechselkäftig: 9 Tage

(¹⁴C-Messung in Urin und Kot;

teilweise Metabolitenbestimmung im Urin;

außer Versuch V und VI)

¹keine Gewöhnung merkbar

3.1.3 PROBENGewinnung UND -Aufbewahrung

3.1.3.1 KOTPROBEN

Kot wurde überwiegend in geformtem Zustand abgesetzt und konnte dann leicht mittels einer Pinzette aufgenommen werden; zum Teil jedoch war er dünnflüssiger, was die exakte Gewinnung erschwerte. Der Kot wurde zusammen mit verstreuten Futterresten bei -20°C bis zur weiteren Analyse tiefgefroren.

3.1.3.2 HARNPROBEN

Der tröpfchenweise abgesetzte Harn wurde durch regelmäßiges Spülen des Aufenthaltsbereichs mit Aqua dest. bzw. des Auffangsystems mit 5 % Metaphosphorsäure (MERCK, Darmstadt) gewonnen; dies erfolgte jeweils nach der Kotsammlung, um eine Kontamination des Kots mit der Spülflüssigkeit zu vermeiden. Von den Harnproben wurde jeweils gleich ein Teil für die anschließende Analyse mit der HPLC entnommen und der Rest in 250 ml-Plastikflaschen bei -20°C aufbewahrt.

3.1.3.3 BLUTPROBEN

Etwa 1,5 ml Blut wurde den Tieren jeweils am letzten Versuchstag aus der V. femoralis entnommen, nachdem die Affen aus dem Käfig gefangen und ohne Sedierung fixiert wurden. Das Blut wurde in Qualicups überführt, zwei Stunden stehengelassen und anschließend 30 min. bei 3000 U/min. zentrifugiert (Eppendorf-Zentrifuge). Nach dem Abpipettieren wurde das Serum mit 5 % Metaphosphorsäure im Verhältnis 1:1 versetzt und bei -20°C tiefgefroren. Bei der Berechnung der Gesamtaktivität im Serum der Tiere wurde bei einer Blutmenge von 7 % des Körpergewichts von einem durchschnittlichen Hämatokrit von 48,5 % für gesunde adulte Tamarine ausgegangen (MC NEES et al., 1982).

3.1.3.4 CO₂-ABSORPTION AUS DER ATEMLUFT

Das Kohlendioxid der Expirationsluft wurde nach einer von BAGGIOLINI (1965) beschriebenen Methode absorbiert. Dabei wurde die Atemluft aus der Stoffwechselkammer abgesaugt, über eine Kühlfalle zur Befreiung von Wasserdampf geleitet und anschließend durch zwei nacheinander geschaltete Gaswaschflaschen gepumpt; diese enthielten jeweils eine Mischung aus 140 ml Ethylenglycolmonomethylether und 60 ml Ethanolamin (beides Merck, Darmstadt), wobei Ethanolamin das CO₂-Absorbens darstellte und der Ethylenglycolmonomethylether als Lösungsvermittler zwischen dem apolaren Ethanolamin und der zur Aktivitätsbestimmung zugegebenen polaren Szintillationsflüssigkeit diente. Dieses Gemisch wurde in bestimmten Abständen innerhalb von 48 Stunden erneuert, in 250 ml-Plastikflaschen überführt und für die Aktivitätsbestimmung im β -Szintillator aufbereitet; der Rest wurde bei -20°C aufbewahrt.

3.1.4 ANALYTISCHE UND RADIOMETRISCHE METHODEN

3.1.4.1 BESTIMMUNG DER ¹⁴C-AKTIVITÄT IN KOT UND SERUM

Die über den gesamten Versuchszeitraum gesammelten Kotproben wurden mit Parafilm abgedeckt, 72 Stunden lyophilisiert, anschließend gewogen und pulverisiert.

Je 2 Aliquots von 100 mg pro Kot- bzw. Serumprobe wurden in einem Sample Oxidizer (Tri-Carb^R sample oxidizer, Modell 3385, Packard) verbrannt, das dabei entstehende CO₂ in Absorptionslösung (Carbo-Sorb^R, Packard) aufgefangen und mit Szintillationsflüssigkeit (Permafluor^R, Packard) versetzt; so konnten die Proben im Flüssigszintillationszähler gemessen werden. Zuvor wurden 2 Proben eines ¹⁴C-Standards zur Bestimmung der Zählausbeute in gleicher Weise behandelt.

3.1.4.2 BESTIMMUNG DER ^{14}C -AKTIVITÄT IM URIN

Von den Harnproben wurden bald nach der Gewinnung jeweils 2 Aliquots von 1 ml mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit versetzt (Aquasol, Du Pont) und im Flüssigszintillationszähler (Betaszint, Modell 5003 A, Berthold, Wildbad), bei einer konstanten Zählausbeute von 79 %, gemessen.

3.1.4.3 BESTIMMUNG DER VITAMIN C-METABOLITEN UND IHRER ^{14}C -AKTIVITÄT IM URIN

Die Metaboliten der Ascorbinsäure im Harn wurden mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt; es waren dies neben der Ascorbinsäure die Dehydroascorbinsäure und die Oxalsäure. Die 2,3-Diketogulonsäure konnte auch hier, ebenso wie in den Versuchen von SIEMS (1988), in keinem Versuch nachgewiesen werden.

Das HPLC-System (Waters Ass., Eschborn) bestand aus einer Pumpe (chromatography pump, Modell 6000 A), einem Einspritzsystem (Modell U6K) und einem UV-Festwelldetektor für 214 nm (Millipore extended wavelength module). Als Trennsäule diente eine "reversed phase Lichrosorb^R RP18" (Merck, Darmstadt) in den Maßen 250x10 mm bei einer Teilchengröße der Säulenfüllung von 10 μm . Verdünnte Phosphorsäure (0,01 M, Serva Biochemica, Heidelberg), die von SIEMS (1988) als für dieses Verfahren geeignetste Säure ermittelt worden war, wurde als Eluent verwendet. In der gleichen Arbeit wurden mittels Standards die Retentionszeiten der Metaboliten bestimmt. Diese betrugen durchschnittlich 9,1 min. für Ascorbinsäure, 6,9 min. für Dehydroascorbinsäure und 5,7 min. für Oxalsäure bei einer Fließgeschwindigkeit des Eluenten von 4 ml/min. Zur Aufbereitung für das HPLC-System wurden die Urinproben 30 sec. lang gerüttelt, je 2 ml in eine Einwegspritze aufgenommen und in ein Qualicup (Zinser, Frankfurt) filtriert (Millex-GS, 0,22 μm , Millipore S.A., Molsheim, France). Von dem Filtrat wurden zwischen 100 μl - 1000 μl in das Einspritzsystem gegeben.

Die ^{14}C -Aktivität der durch die Säule aufgetrennten und im Photometer identifizierten Metabolite wurde durch einen Radioaktivitätsmonitor LB 505 (Berthold, Wildbad) gemessen und von einem Schreiber simultan aufgezeichnet.

3.1.4.4 BESTIMMUNG DER ^{14}C -AKTIVITÄT IN DER EXPIRATIONSLUFT

Zur Messung der ^{14}C -Aktivität in der Atemluft wurden zwei Verfahren angewandt. Einerseits die CO_2 -Absorption über 48 Stunden (s. 3.1.3.4); zusätzlich wurde die Aktivität der Atemluft in den ersten 8 Stunden des Versuchs (Versuch I: 7 h; Versuch II: 11 h; Versuch III: 9 h) mittels eines zur ^{14}C -Messung modifizierten, kontinuierlichen Tritium-Monitors (LB 106 K, Berthold, Wildbad) gemessen. Dabei gelangte die Luft, mit Hilfe einer Membranpumpe angesaugt, aus der Stoffwechselkammer über eine Kühlfalle in den Monitor; dort wurde sie zunächst staubgefiltert und gelangte dann in das Durchflußzählrohr, wo sie mit Methan als Zählgas in einem Verhältnis von 2:1 (Methan:Luft) gemischt wurde. Die alle 200 sec. gemessene Impulsrate wurde von einem Schreiber aufgezeichnet und für die spätere Auswertung vom Computer unter Berücksichtigung der Wechselzeit in einem Lochstreifensystem markiert.

Dieses Verfahren eignet sich nur für die Messung von vergleichsweise hohen Aktivitätsmengen in der Luft (Zählrate beträgt nur 12,5 % der Zerfallsrate) und wurde deshalb nur in den ersten 8 bzw. 11 Stunden angewendet, um den zeitlichen Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation optimal erfassen zu können.

Von den über einen Zeitraum von 48 Stunden gewonnenen Proben der CO_2 -Absorption aus den Gaswaschflaschen wurden je 2 Aliquots von 1 ml mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Aquasol, Du Pont) versetzt und im Flüssigszintillationszähler (Betasint, Modell 5003 A) gemessen.

3.1.4.5 BERECHNUNGEN

Die Auswertung der Ergebnisse in Bezug auf die kinetischen Parameter erfolgte anhand von ^{14}C -Ganzkörperretentionskurven. Die retinierte ^{14}C -Aktivität wurde errechnet durch Subtrahieren der in Urin, Expirationsluft und Kot ausgeschiedenen Mengen von der verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure. Der zeitabhängigen Abnahme der Ganzkörperretention wurde zur mathematischen Beschreibung eine Retentionskurve folgender Form zugrundegelegt: $R(t) = A_1 e^{-\lambda_1 t} + A_2 e^{-\lambda_2 t} + A_3 e^{-\lambda_3 t}$. Die Berechnung der Parameter nach der Methode der kleinsten Quadratfehlersumme erfolgte mit Hilfe eines Kurvenanpassungsprogramms nach BERG (1989) an einem Tectronix-Graphik-Computer (Mod. 4052) durch Rekursionsrechnung.

3.2 ERGEBNISSE

Im ersten Versuch wurden dem Affen Fitzgerald 925 kBq der $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure peroral verabreicht. Anschließend wurde er zusammen mit Mephisto in die Stoffwechselkammer gesetzt. Fitzgerald schien die räumliche Einnengung in der Kammer relativ wenig zu belasten, obgleich er die ersten 48 Stunden außer etwas Banane kein Futter aufnahm und leicht dickbreiligen Kot absetzte. Auch war die Futteraufnahme im weiteren Verlauf der ersten Versuchswoche stark reduziert. Sein Partner Mephisto hingegen schien in großer Aufregung, sprang in der Stoffwechselkammer umher und versuchte aus dieser zu entkommen.

In einem Zeitraum von 11 Tagen wurden in Atemluft, Urin und Kot insgesamt 47,2 % der verabreichten Aktivität wiedergefunden. Der jeweilige Anteil an der Gesamtexkretion in den drei Ausscheidungsfraktionen wird in Tabelle 5 wiedergegeben. Aus Abbildung 1 ist der zeitliche Verlauf der Exkretion, kumulativ aufgetragen, zu ersehen. Die Hauptausscheidung erfolgte über den Urin mit 28,2 % der verabreichten Aktivität, wobei das Maximum nach der dritten Stunde erreicht war. Nach 48 Stunden waren bereits zwei Drittel der im Urin gefundenen Aktivität eliminiert. Die prozentuale Verteilung der Metaboliten im Urin, die mittels HPLC aufgetrennt wurden, ist in Tabelle 6 aufgeführt.

Mit der Atemluft wurden 10,2 % der verabreichten Aktivität ausgeschieden. Die $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation begann dabei schon wenige Minuten nach Applikation der Dosis und erreichte nach der vierten Stunde das Maximum. Nach acht Stunden waren bereits 8,9 % der $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure zu $^{14}\text{CO}_2$ verstoffwechselt. Der zeitliche Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation in den ersten sieben Stunden nach Versuchsbeginn ist in Abbildung 2 dargestellt. Die Ausscheidung über den Kot betrug 8,8 % der aufgenommenen Aktivität, davon fast zwei Drittel in den ersten 48 Stunden. Ab diesem Zeitpunkt konnten nur noch geringe ^{14}C -Aktivitäten pro Meßzeitraum im Kot nachgewiesen werden. Im Serum wurde zu Versuchsende ein ^{14}C -Gehalt von 1 % der applizierten Dosis, umgerechnet auf das Gesamtserum des Tieres, gemessen. Der Affe hatte 15 % seines Körpergewichts verloren.

Tabelle 5: Versuch I: Exkretion von ^{14}C -Aktivität über Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure bei "Fitzgerald" nach Gewöhnung an die Versuchsbedingungen

Meßzeitraum (h nach Applikation)	Atemluft %	Urin %	Kot %	Gesamt %
0 - 1	0,7	4,9	0,002	9,3
1 - 2	1,6			
2 - 3	2,1			
3 - 4	2,9	2,4	0,9	7,5
4 - 6	1,3			
6 - 8	0,3	1,3	0,08	1,7
8 - 24	0,4	4,8	2,4	7,6
24 - 32	0,5	2,2	0,4	3,1
32 - 48	0,4	3,5	1,5	5,4
48 - 72		3,0	1,6	4,6
72 - 96		2,9	0,6	3,5
96 - 168		1,6	0,6	2,2
168 - 192		0,4	0,2	0,6
192 - 216		0,4	0,1	0,5
216 - 240		0,3	0,2	0,5
240 - 264		0,3	0,2	0,5
Nachspülung nach 48 h		0,2		0,2
Nachspülung nach 264 h		-		-
Summe	10,2	28,2	8,8	47,2

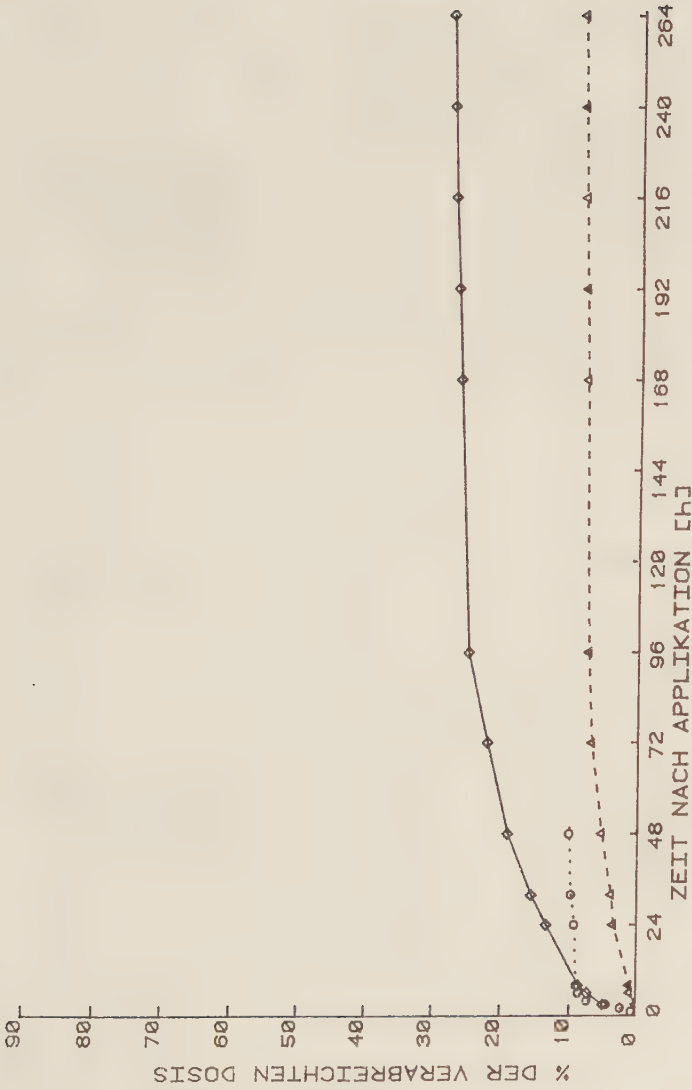


Abbildung 1: Versuch I: Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer oral verabreichten Dosis ^{14}C -Ascorbinsäure, in Expirationsluft (○), Urin (◇) und Kot (▲).

Prozentuale Verteilung der Vitamin C-Metaboliten im Urin

Tabelle 6: Versuch I:

Meßzeitraum (h)	Oxalsäure %	Ascorbat ¹ %
0 - 3	41,5	58,5
3 - 6	54	46
6 - 8	55	45
8 - 24	76	24
24 - 32	91,5	8,5
32 - 48	100	-

¹Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure. (DHAA)
In diesem Versuch wurde jedoch nur DHAA gefunden.

Tabelle 7: Versuch II:

Meßzeitraum (h)	Oxalsäure %	Ascorbat ¹ %
0 - 3	.*	.*
3 - 6	88,8	11,2
6 - 8	.*	.*
8 - 24	61,7	38,3
24 - 32	45,3	54,7
32 - 48	73,4	26,6
48 - 56	100	-

*Die gemessene Aktivität war zu gering, um eine gesicherte qualitative Zuordnung zu den Metaboliten herzustellen.

Prozentuale Verteilung der Vitamin C-Metaboliten im Urin

Tabelle 8: Versuch III:

Meßzeitraum (h)	Oxalsäure %	Ascorbat ¹ %
0 - 3	55,7	44,3
3 - 6	57	43
6 - 8	.*	.*
8 - 24	100	-

*die gemessene Aktivität war zu gering, um eine gesicherte qualitative Zuordnung zu den Metaboliten herzustellen.

Die über weitere zwei Meßzeiträume ermittelte Aktivität im Urin konnte nur der Oxalsäure zugeordnet werden.

Tabelle 9: Versuch IV:

Meßzeitraum (h)	Oxalsäure %	Ascorbat ¹ %
0 - 3	34,6	65,4
3 - 6	22,8	77,2
6 - 8	.*	.*
8 - 24	54,1	45,9
24 - 32	100	-

*Die gemessene Aktivität war zu gering, um eine gesicherte qualitative Zuordnung zu den Metaboliten herzustellen.

Prozentuale Verteilung der Vitamin C-Metaboliten im Urin

Tabelle 10: Versuch VII:

Meßzeitraum (h)	Oxalsäure %	Ascorbat %
0 - 3	39,5	60,5
3 - 6	45,9	54,1
6 - 8	51,9	48,1
8 - 24	65,9	34,1
24 - 32	100	-

Die über weitere drei Meßzeiträume ermittelte Aktivität im Urin konnte nur der Oxalsäure zugeordnet werden.

Tabelle 11: Versuch VIII:

Meßzeitraum (h)	Oxalsäure %	Ascorbat %
0 - 3	6,9	93,1
3 - 6	12,8	87,2
6 - 8	45,7	54,3
8 - 24	100	-

Die über weitere zwei Meßzeiträume ermittelte Aktivität im Urin konnte nur der Oxalsäure zugeordnet werden.

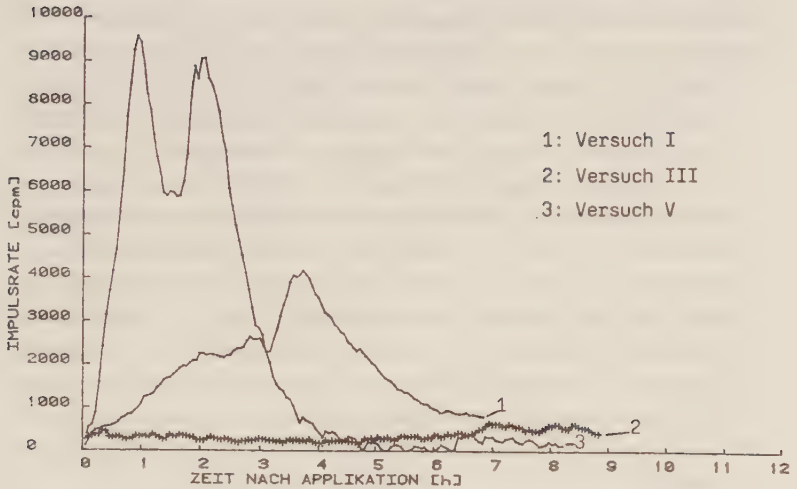


Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation bei "Fitzgerald".

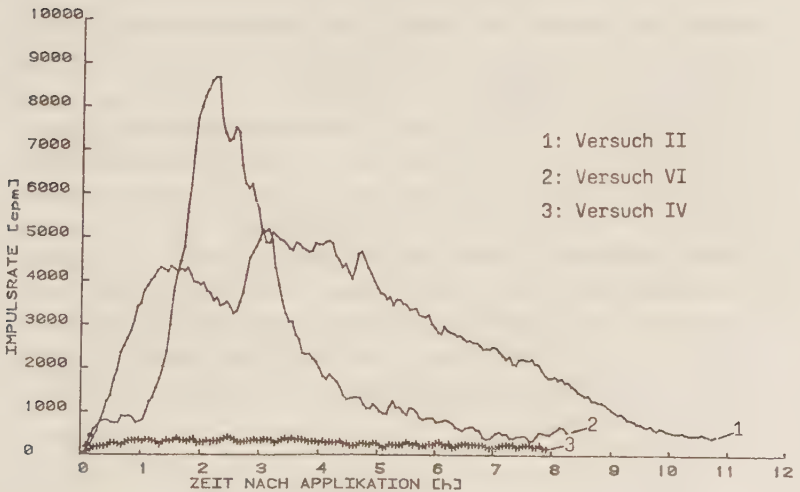


Abbildung 3: Zeitlicher Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation bei "Mephisto".

Im **zweiten Versuch** erhielt Mephisto die radioaktive Dosis von 925 kBq peroral. Zur Beruhigung wurde auch er mit seinem Partner Fitzgerald zusammen in die Stoffwechselkammer gesetzt. Trotz der Tatsache, daß Mephisto schon einmal 48 Stunden in der Kammer verbracht hatte, und außerdem nicht alleine war, erregte er sich stark: er schrie, rupfte unentwegt Schaumstoff aus der Abdichtung des Deckels der Kammer, einige Male sprang er mit dem Kopf gegen die Kammerwand. Ca. drei Stunden nach Versuchsbeginn war die Kammerwand fast vollständig beschlagen. Vor allem während des Spülvorgangs schien der Affe sehr beunruhigt. Besonders auffällig war dabei, daß das Tier ständig das Wasser, das zum Spülen verwendet wurde, nervös aufleckte. Der Kot wurde sehr breilig abgesetzt und konnte so nicht exakt aufgenommen werden, so daß es bei der Kotgewinnung wahrscheinlich zu einer Kontamination mit Urin kam. Die exakte Gewinnung von Kot und Urin wurde außerdem durch den starken Haarausfall der Tiere erschwert, da dadurch die Spülwanne zum Teil vollständig bedeckt war. Die Futteraufnahme des Affen war die ganze Versuchszeit über gering (nur etwas Banane und Bonbon) und erfolgte wahrscheinlich nur aus Futterneid gegenüber dem anderen Tier.

Innerhalb der 11 Versuchstage wurden 86 % der verabreichten Aktivität über Atemluft, Urin und Kot ausgeschieden. Tabelle 12 zeigt den jeweiligen Anteil an der Gesamtexkretion in den drei Ausscheidungsfractionen. In Abbildung 4 ist der zeitliche Verlauf der Exkretion kumulativ aufgetragen. Hauptausscheidungsweg war der Urin mit 38,2 % der applizierten Dosis mit einem Maximum nach 6 Stunden. Nach 48 Stunden waren bereits über zwei Drittel ausgeschieden. Die im Urin durch HPLC ermittelten Metaboliten sind in ihrer prozentualen Verteilung in Tabelle 7 aufgeführt.

Als $^{14}\text{CO}_2$ wurden 27,5 % der markierten Ascorbinsäure exhaliert, wobei das Maximum zwischen der dritten und vierten Stunde auftrat. Ein erster Peak, jedoch nicht so ausgeprägt wie das 4-Stunden-Maximum, war schon nach der zweiten Stunde zu ermitteln. Acht Stunden nach Versuchsbeginn waren bereits 25,6 % der Dosis ausgeschieden. Der zeitliche Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation in den ersten 11 Stunden nach Versuchsbeginn ist aus Abbildung 3 ersichtlich. Der Kot enthielt 20,3 % der aufgenommenen Aktivität. Nach 24 Stunden waren über zwei Drittel davon eliminiert. In den ersten 8 Stunden erfolgte kein Kotabsatz. Im Serum fand sich am letzten Versuchstag ein Anteil von 0,03 % der applizierten Aktivität. Es wurde ein Gewichtsverlust von 7 % des Körpergewichtes festgestellt.

Tabelle 12: Versuch II: Exkretion von ^{14}C -Aktivität über Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei "Mephisto" nach Gewöhnung an die Versuchsbedingungen

Meßzeitraum (h nach Applikation)	Atemluft %	Urin %	Kot %	Gesamt %
0 - 1	2,3	0,009	*	12,2
1 - 2	5,1			
2 - 3	4,8			
3 - 4	5,8	15,4		26,1
4 - 6	4,9			
6 - 8	2,7	0,4		3,1
8 - 24	1,3	6,8	17,4	25,5
24 - 32	0,4	6,3	1,3	8,0
32 - 48	0,2	1,7	0,5	2,4
48 - 56		1,3	0,2	1,5
56 - 72		0,8	0,1	0,9
72 - 96		1,5	0,1	1,6
96 - 168		2,2	0,4	2,6
168 - 192		0,5	0,1	0,6
192 - 216		0,5	0,1	0,6
216 - 240		0,4	0,1	0,5
240 - 264		0,3	0,05	0,4
Nachspülung nach 48 h		0,07		0,07
Nachspülung nach 264 h		0,02		0,02
Summe	27,5	38,2	20,3	86,0

*kein Kotabsatz

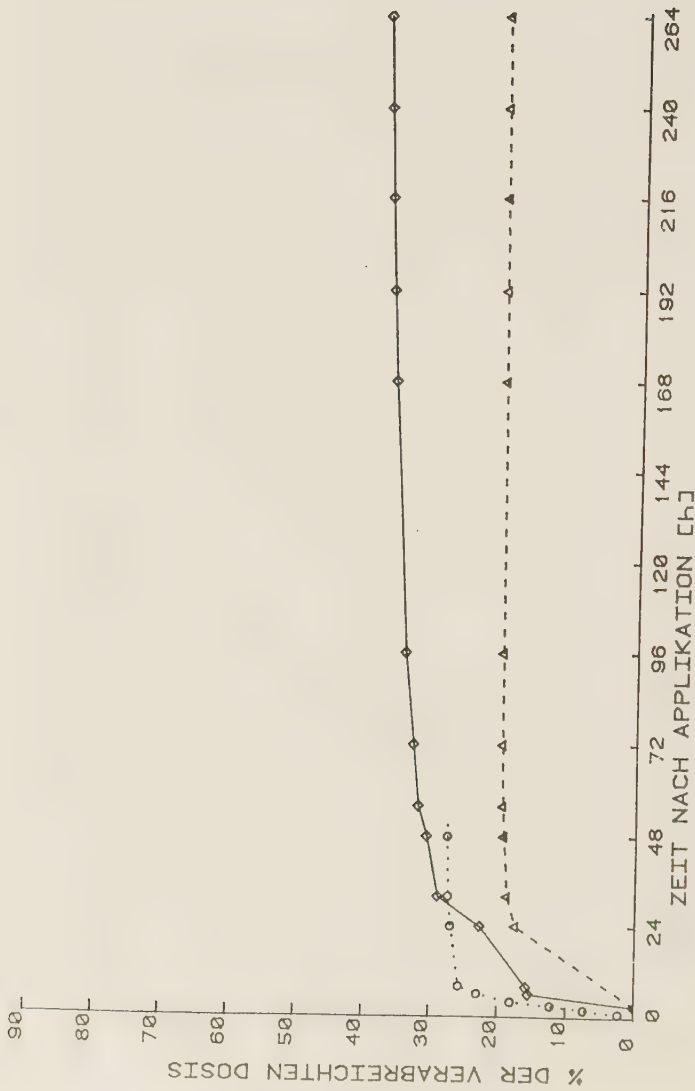


Abbildung 4: Versuch II: Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure, in Expirationsluft (○), Urin (◇) und Kot (△).

Im **dritten Versuch** wurde dem Affen Fitzgerald eine Dosis von 370 kBq $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure in die Vena femoralis injiziert. Wieder wurden beide Affen in die Stoffwechselkammer gesetzt. Auch waren beide wiederum zuvor an kurze Aufenthalte in dieser gewöhnt worden, um Streß möglichst zu vermeiden.

Fitzgerald schien nicht aufgeregt zu sein, nahm Banane und Bonbons an, außerdem setzte er relativ festen Kot ab. Nervöser hingegen schien wieder sein Partner zu sein. Erst gegen Ende der siebten Stunde nach Versuchsbeginn wurde auch Fitzgerald sehr unruhig und begann Schaumstoff aus der Deckelabdichtung auszuzupfen. Die Kammerwand beschlug wieder stark. Auffallend war wiederum der Haarverlust, wobei nicht ersichtlich war, welches der beiden Tiere hauptsächlich dafür verantwortlich war. In der zweiten Versuchswoche trat leichter Durchfall auf. Die Nahrungsaufnahme war über 11 Tage hinweg reduziert.

Insgesamt wurden während des Versuchszeitraums 66,5 % der $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure mit Atemluft, Urin und Kot ausgeschieden. Tabelle 13 gibt den jeweiligen Anteil an der Gesamtexkretion in den drei Ausscheidungsfraktionen wieder. Abbildung 5 zeigt den zeitlichen Verlauf der Ausscheidung in kumulativer Auftragung. Die Hauptausscheidung erfolgte mit 52,7 % über den Harn, wobei das Maximum nach drei Stunden auftrat. Der prozentuale Anteil der Urinmetaboliten ist in Tabelle 8 aufgezeichnet.

Zu $^{14}\text{CO}_2$ wurden 7,5 % der Aktivität oxidiert, wobei zunächst ein deutlich ausgeprägtes Maximum fehlte. Erste gegen Ende der 7. Stunde begann die $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation anzusteigen, so daß etwa zwei Drittel der Aktivität zwischen 6 und 48 Stunden ausgeschieden wurden. Die $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation begann bereits wenige Minuten nach Applikation der Dosis; ihr zeitlicher Verlauf in den ersten 9 Stunden des Versuchs ist in Abbildung 2 dargestellt. Im Kot fanden sich 6,3 % der injizierten Dosis; in den ersten 6 Stunden erfolgte kein Kotabsatz. Am letzten Versuchstag wurde im Serum ein Anteil von 0,06 % der markierten Ascorbinsäure gemessen. Der Affe hatte 10 % seines Körpergewichts abgenommen.

Tabelle 13: Versuch III: Exkretion von ^{14}C -Aktivität über Atemluft, Urin und Kot in % einer intravenös verabreichten 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei "Fitzgerald" nach Gewöhnung an die Versuchsbedingungen

Meßzeitraum (h nach Applikation)	Atemluft %	Urin %	Kot %	Gesamt %
0 - 1	0,7	12,8	*	14,6
1 - 2	0,7			
2 - 3	0,4			
3 - 4	0,3	4,4		5,2
4 - 6	0,5			
6 - 8	1,2	1,9	0,02	3,1
8 - 24	1,7	4,6	1,4	7,7
24 - 32	1,2	2,7	0,4	4,3
32 - 48	0,8	1,9	0,7	3,4
48 - 72		4,8	1,6	6,4
72 - 96		6,5	0,5	7,0
96 - 168		8,5	1,3	9,8
168 - 192		1,4	0,1	1,5
192 - 216		1,1	0,1	1,2
216 - 240		1,0	0,1	1,1
240 - 264		0,8	0,1	0,9
Nachspülung nach 48 h		0,1		0,1
Nachspülung nach 264 h		0,2		0,2
Summe	7,5	52,7	6,3	66,5

*kein Kotabsatz

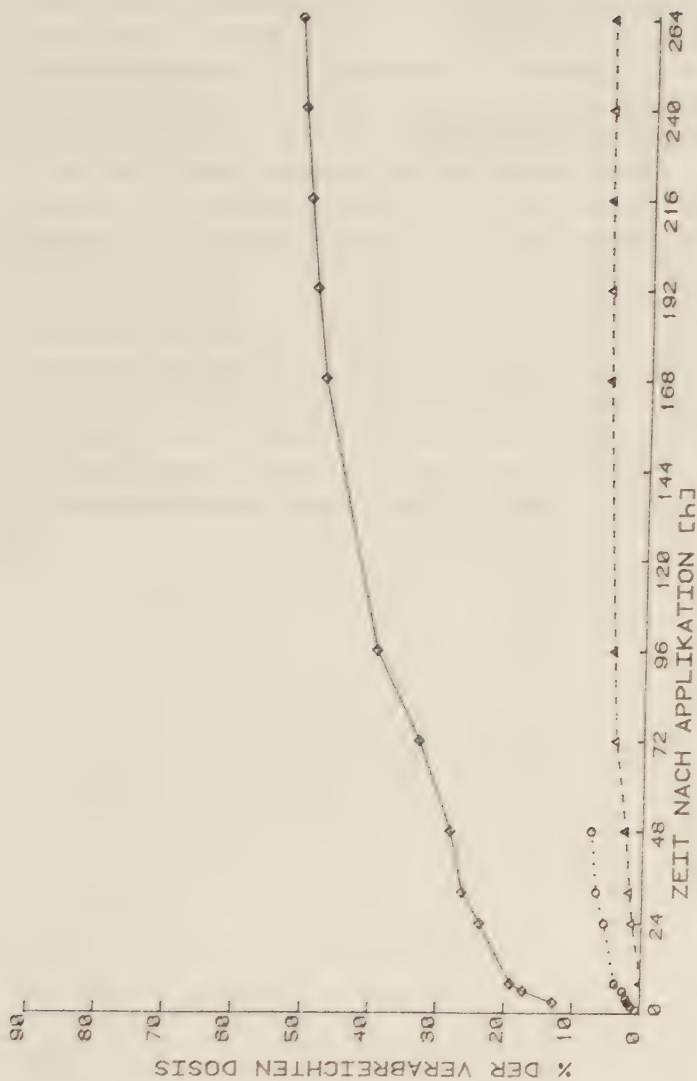


Abbildung 5: Versuch III: Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer intravenös verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure, in Expirationsluft (o), Urin (◇) und Kot (Δ).

Im vierten Versuch wurde dem Affen Mephisto die radioaktiv markierte Ascorbinsäure in einer Dosis von 370 kBq injiziert. Beide Tiere saßen ruhig in der Kammer. Mephisto war im Vergleich zu seinem ersten Versuch relativ ruhig, nahm Bonbons und Banane auf und setzte überwiegend geformten Kot ab. Die Futteraufnahme war jedoch allgemein reduziert, vor allem in der ersten Woche.

Während des Versuchszeitraumes wurden insgesamt 95,8 % der verabreichten Aktivität über Atemluft, Urin und Kot ausgeschieden. Aus Tabelle 14 ist der jeweilige Anteil an der Gesamtausscheidung in den drei Fraktionen ersichtlich. Abbildung 6 zeigt den zeitlichen Verlauf der Exkretion kumulativ aufgetragen. Hauptexkretionsweg war der Urin mit 84,3 % der verabreichten Dosis mit einem Ausscheidungsmaximum nach drei Stunden. Nach 24 Stunden waren bereits zwei Drittel davon eliminiert. Bis zum 8. Versuchstag wurden noch relativ hohe Werte pro Meßzeitraum im Urin nachgewiesen. Die prozentuale Verteilung der Metaboliten im Urin zeigt Tabelle 9.

Als $^{14}\text{CO}_2$ wurden 4,4 % der aktiven Dosis exhaliert, wobei jedoch ohne ausgeprägtes Maximum fast zwei Drittel der Aktivität in den ersten vier Stunden des Versuchs ausgeschieden wurden. Die $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation setzte wenige Minuten nach der Applikation ein; den zeitlichen Verlauf in den ersten 8 Stunden des Versuchs zeigt Abbildung 3. Der Kot enthielt 7,1 % der injizierten Ascorbinsäure. Im Serum fand sich ein Anteil von 0,05 % der applizierten Aktivität. Der Affe hatte 7 % seines Körpergewichts verloren.

Tabelle 14: Versuch IV: Exkretion von ^{14}C -Aktivität über Atemluft, Urin und Kot in % einer intravenös verabreichten 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei "Mephisto" nach Gewöhnung an die Versuchsbedingungen

Meßzeitraum (h nach Applikation)	Atemluft %	Urin %	Kot %	Gesamt %
0 - 1	0,9	32,8	0,9	41,9
1 - 2	0,7			
2 - 3	0,6			
3 - 4	0,5	8,5	1,7	11,1
4 - 6	0,4			
6 - 8	0,3	2,7	0,6	3,6
8 - 24	0,4	4,7	0,4	5,5
24 - 32	0,2	9,4	0,8	10,4
32 - 48	0,4	1,6	0,2	2,2
48 - 56		3,0	0,2	3,2
56 - 72		1,8	0,2	2,0
72 - 96		4,7	0,7	5,4
96 - 168		5,3	0,7	6,0
168 - 192		1,1	0,3	1,4
192 - 216		1,0	0,2	1,2
216 - 240		0,7	0,1	0,8
240 - 264		0,6	0,1	0,7
Nachspülung nach 48 h		0,2		0,2
Nachspülung nach 264 h		0,2		0,2
Summe	4,4	84,3	7,1	95,8

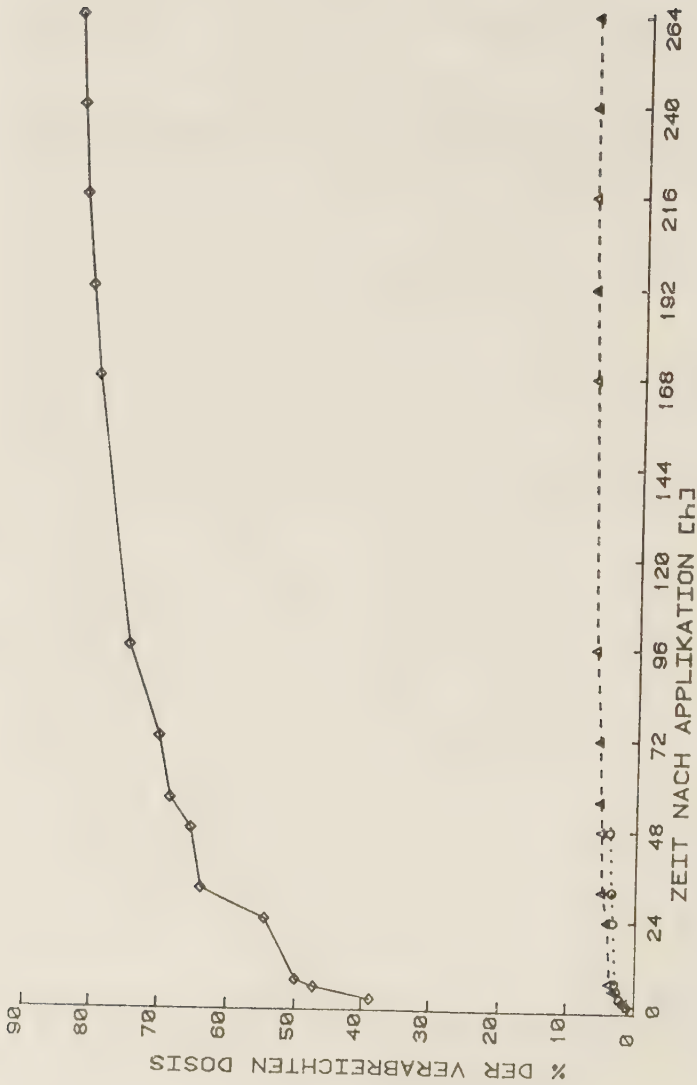


Abbildung 6: Versuch IV: Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer intravenös verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure, in Expirationsluft (○), Urin (◇) und Kot (▲).

Im **fünften Versuch** sollte der Affe Fitzgerald psychischer Belastung ausgesetzt werden, um den Einfluß von Streß auf den Vitamin C-Stoffwechsel zu untersuchen. Dies erfolgte durch die ungewohnt alleinige Haltung ohne seinen Partner in der Stoffwechselkammer, nach oraler Applikation von 925 kBq einer 1- ^{14}C -Ascorbinsäure. Zusätzlich wurde das Tier in den ersten zwei Stunden durch Vorzeigen der Handschuhe, mit denen die Affen immer aus dem Käfig gefangen werden, beunruhigt. Auch die Anwesenheit der Person, die die Affen herausfängt, bewirkte deutliche Aufregung des Tieres, was sich in wildem Umherspringen, Sträuben der Haare und Schreien äußerte. Der Kotabsatz erfolgte weich, jedoch noch geformt. Fitzgerald verweigerte zunächst die Futteraufnahme, erst im Tagesverlauf fraß er von Zeit zu Zeit kleine Bananen- und Bonbonstücke. Nach Umsetzen in den Stoffwechselkäfig nach 48 Stunden normalisierte sich die Nahrungsaufnahme sehr langsam wieder. Wiederum kam es zu starkem Haarverlust. Innerhalb von 11 Tagen wurden insgesamt 71,2 % der oral verabreichten Aktivität über Kot, Urin und Atemluft ausgeschieden. Tabelle 15 gibt den jeweiligen Anteil an der Exkretion der applizierten Aktivitätsmenge pro Meßzeitraum wieder. Der zeitliche Verlauf der ^{14}C -Eliminierung über die drei Ausscheidungsfraktionen ist in Abbildung 7 kumulativ aufgetragen. Allein mit der Atemluft wurden 37,1 % der Aktivität als $^{14}\text{CO}_2$ ausgeschieden, wobei die $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation schon wenige Minuten nach Applikation der Dosis einsetzte. Zwei ausgeprägte Maxima traten nach der ersten und nach der zweiten Stunde auf, so daß in den ersten vier Stunden bereits 31,7 % als $^{14}\text{CO}_2$ exhaliert waren. Abbildung 2 zeigt den zeitlichen Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation in den ersten 8 Stunden. Die Ausscheidung über den Urin erfolgte mit 26 %, mit einem Maximum nach drei Stunden. Die Ermittlung der Vitamin C-Metaboliten im Urin war nicht möglich, da die radiochemische Reinheit des ^{14}C -Standards nicht ausreichte, diese eindeutig zu identifizieren. In den Fäzes wurden 8,1 % der Aktivität gemessen. Nach 48 Stunden war davon etwa die Hälfte ausgeschieden. Die Messung des Serums ergab, bezogen auf das Gesamtserum des Tieres, einen ^{14}C -Gehalt von 0,06 % der aufgenommenen Aktivität. Der Affe hatte 11 % seines Körpergewichts abgenommen.

Tabelle 15: Versuch V: Exkretion von ^{14}C -Aktivität über Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei "Fitzgerald" nach psychischer Belastung

Meßzeitraum (h nach Applikation)	Atemluft %	Urin %	Kot %	Gesamt %
0 - 1	6,4	5,2	*	33,8
1 - 2	10,5			
2 - 3	11,7			
3 - 4	3,1	2,5	1,7	8,4
4 - 6	1,1			
6 - 8	1,2	1,0	*	2,2
8 - 24	1,5	2,7	1,6	5,8
24 - 32	0,9	1,7	0,3	2,9
32 - 48	0,7	1,9	0,5	3,1
48 - 56		2,4	0,2	2,6
56 - 72		1,2	0,6	1,8
72 - 96		2,1	0,6	2,7
96 - 168		2,6	2,0	4,6
168 - 192		1,0	0,2	1,2
192 - 216		0,6	0,2	0,8
216 - 240		0,5	0,1	0,6
240 - 264		0,4	0,1	0,5
Nachspülung nach 48 h		0,1		0,1
Nachspülung nach 264 h		0,1		0,1
Summe	37,1	26,0	8,1	71,2

*kein Kotabsatz

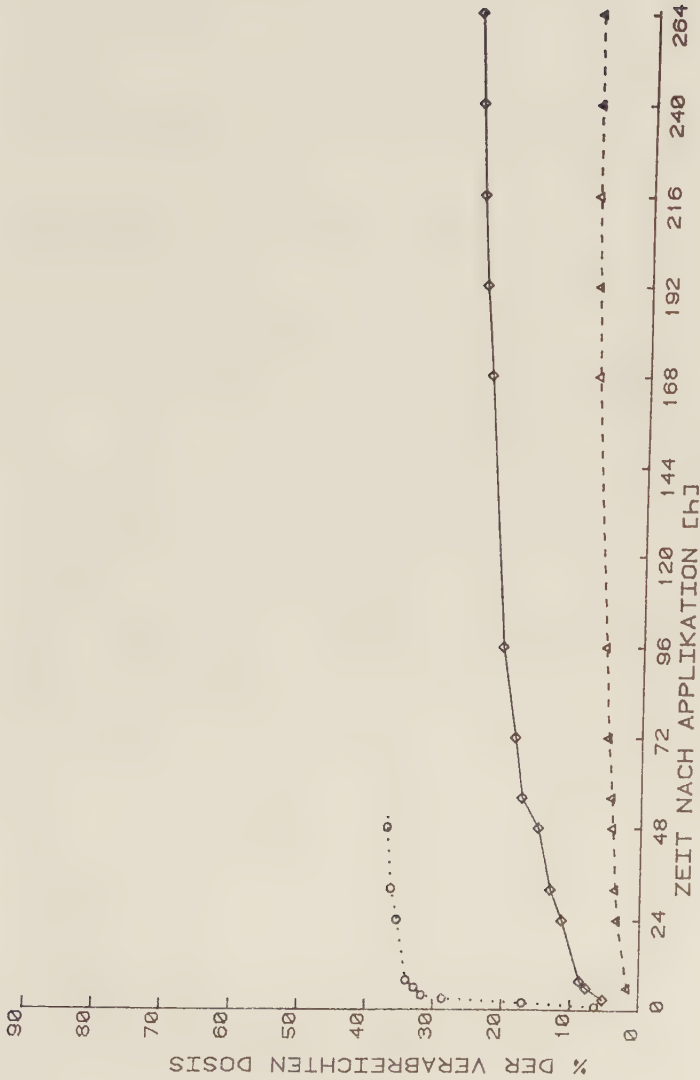


Abbildung 7: Versuch V: Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure, in Expirationsluft ($\circ$), Urin ($\diamond$) und Kot (Δ).

Im **sechsten Versuch** sollte der Affe Mephisto psychischer Belastung ausgesetzt werden. Dies erfolgte mit den gleichen Mitteln wie im fünften Versuch. Das Tier wurde nach peroraler Verabreichung von 925 kBq der markierten Ascorbinsäure alleine in die Stoffwechsellkammer gesetzt. Mephisto war zwar unruhig und stieß schrille Schreie aus, doch erst nach zwei Stunden wurde er richtig aufgeregt, wobei er unentwegt Schaumgummi ausrupfte und aus der Silikonverkleidung Fetzen herausriß. Das Tier versuchte, aus der Kammer zu entkommen; einmal gelang es ihm sogar, den roten Gummistopfen, der die Öffnung zum Futterbehälter verschließt, herauszustößen. Die Futteraufnahme war allgemein reduziert. Auffällig war der starke Haarverlust.

Insgesamt wurden 94,3 % der verabreichten Aktivität über Atemluft, Kot und Urin während des Versuchszeitraumes eliminiert. Tabelle 16 zeigt den jeweiligen Anteil an der Gesamtexkretion in den drei Ausscheidungsfractionen. In Abbildung 8 ist der zeitliche Verlauf der Ausscheidung kumulativ aufgezeichnet. In der Urinfraction fanden sich 47,8 %, was den Hauptanteil der ausgeschiedenen Aktivität ausmachte. Das Ausscheidungsmaximum trat nach drei Stunden auf. Die Ermittlung der Vitamin C-Metaboliten im Urin war nicht möglich, da die radiochemische Reinheit des ^{14}C -Standards nicht ausreichend war, um diese eindeutig zu identifizieren.

39,3 % der aufgenommenen Aktivität nahm die Exhalation als $^{14}\text{CO}_2$ ein, wobei diese wenige Minuten nach Applikation der Dosis begann. Die Ausscheidung erreichte nach der zweiten Stunde den Höhepunkt; das Maximum fiel bis zur vierten Stunde langsam ab. Vier Stunden nach Versuchsbeginn waren 30,9 % des Tracers als $^{14}\text{CO}_2$ ausgeschieden. Den zeitlichen Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation in den ersten 8 Stunden nach Versuchsbeginn zeigt Abbildung 3. Der Kot enthielt 7,2 % der aufgenommenen ^{14}C -Dosis; zwei Drittel davon waren nach 32 Stunden ausgeschieden. Die Messung des Serums ergab, bezogen auf das Gesamtserum des Affen, einen Anteil von 0,07 % der verabreichten $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure. Mephisto hatte 5 % seines Körpergewichts verloren.

Tabelle 16: Versuch VI: Exkretion von ^{14}C -Aktivität über Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei "Mephisto" nach psychischer Belastung

Meßzeitraum (h nach Applikation)	Atemluft %	Urin %	Kot %	Gesamt %
0 - 1	1,3	8,1	0,004	33,0
1 - 2	8,4			
2 - 3	15,2			
3 - 4	6,0	0,1	2,7	12,8
4 - 6	4,0			
6 - 8	2,2	9,0	1,3	12,5
8 - 24	1,2	2,9	0,4	4,5
24 - 32	0,5	12,2	0,7	13,4
32 - 48	0,5	3,0	0,3	3,8
48 - 56		3,4	0,7	4,1
56 - 72		1,3	0,1	1,4
72 - 96		2,8	0,3	3,1
96 - 168		2,8	0,5	3,3
168 - 192		0,7	0,1	0,8
192 - 216		0,4	0,03	0,4
216 - 240		0,4	0,1	0,5
240 - 264		0,4	0,02	0,4
Nachspülung nach 48 h		0,2		0,2
Nachspülung nach 264 h		0,1		0,1
Summe	39,3	47,8	7,2	94,3

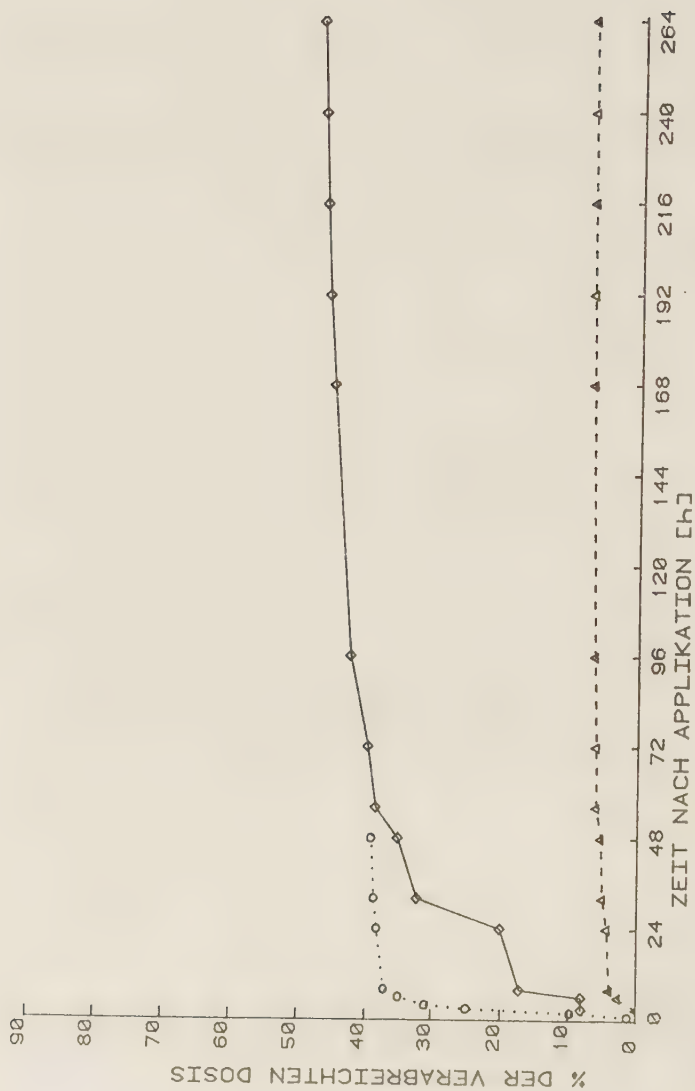


Abbildung 8: Versuch VI: Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure, in Expirationsluft (○), Urin (◇) und Kot (Δ).

Im **siebten Versuch** wurden dem dritten Affen, Kasimir, 925 kBq einer $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure peroral verabreicht. Auch dieser Versuch sollte unter psychischer Belastung durchgeführt werden. So war das Tier nicht an den Versuchsraum und den Versuchsablauf gewöhnt, sondern direkt aus dem Tierstall der Universität in die GSF gebracht und in die Stoffwechselkammer gesetzt worden. Der Affe schien sehr beunruhigt, fing nach einer Stunde an, Schaumgummi auszurupfen und an der Silikon-dichtung herumzunagen. Der Kotabsatz erfolgte zum Teil dünnbreilig. Auch rutschte der Affe ständig mit dem ganzen Körper an der Kammerwandung entlang, so daß sein Fell durch das dort haftende Aqua dest. völlig naß wurde. Erst nach der vierten Stunde schien sich Kasimir wieder zu beruhigen; sein Kot wurde jedoch ab der fünften Stunde dünnflüssiger, was die exakte Gewinnung erschwerte. Während des ersten Versuchstages nahm er nur wenig Futter in Form von kleinen Bananen- und Bonbonstückchen auf. Im gesamten Versuchszeitraum war die Futteraufnahme reduziert und das Tier verlor viele Haare.

Innerhalb von 11 Tagen wurden 91,5 % der applizierten Ascorbinsäure in Atemluft, Kot und Urin wiedergefunden. Aus Tabelle 17 ist der jeweilige Anteil an der Gesamtausscheidung in den drei Fraktionen zu ersehen. Abbildung 9 zeigt den zeitlichen Verlauf der Exkretion in kumulativer Auftragung.

Den Haupteliminationsweg stellte der Harn mit 56,3 % dar, mit einem Maximum nach sechs Stunden. Nach 72 Stunden waren zwei Drittel davon ausgeschieden. Die prozentuale Verteilung der Vitamin C-Metaboliten im Urin, ist in Tabelle 10 dargestellt. Zu $^{14}\text{CO}_2$ wurden 25,2 % des Tracers oxidiert, wobei ein ausgeprägtes Exhalationsmaximum nach zwei Stunden erreicht war. Die Oxidation zu $^{14}\text{CO}_2$ begann wenige Minuten nach Applikation der Dosis. Nach vier Stunden waren 19,4 % der Aktivität als $^{14}\text{CO}_2$ ausgeschieden. Abbildung 10 gibt den zeitlichen Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation in den ersten acht Stunden wieder. Mit den Fäzes wurden 10 % der Aktivität ausgeschieden, etwa zwei Drittel davon in den ersten 32 Stunden. Die Serummessung ergab einen Anteil von 0,07 % der verabreichten $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure. Der Gewichtsverlust des Affen betrug 14 % seines Körpergewichts.

**Tabelle 17: Versuch VII: Exkretion von ^{14}C -Aktivität über Atemluft, Urin und Kot
in % einer oral verabreichten 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei "Kasimir" nach
psychischer Belastung**

Meßzeitraum (h nach Applikation)	Atemluft %	Urin %	Kot %	Gesamt %
0 - 1	1,2	8,2	1,0	25,2
1 - 2	8,3			
2 - 3	6,5			
3 - 4	3,4	11,1	2,8	19,3
4 - 6	2,0			
6 - 8	1,1	4,5	1,0	6,6
8 - 24	1,5	6,2	1,0	8,7
24 - 32	0,7	2,4	1,2	4,3
32 - 48	0,5	2,2	0,3	3,0
48 - 56		1,1	0,2	1,3
56 - 72		1,6	0,06	1,6
72 - 96		5,1	0,3	5,4
96 - 168		9,2	1,5	10,7
168 - 192		1,2	0,1	1,3
192 - 216		1,0	0,2	1,2
216 - 240		1,2	0,2	1,4
240 - 264		1,0	0,1	1,1
Nachspülung nach 48 h		0,2		0,2
Nachspülung nach 264 h		0,1		0,1
Summe	25,2	56,3	10,0	91,5

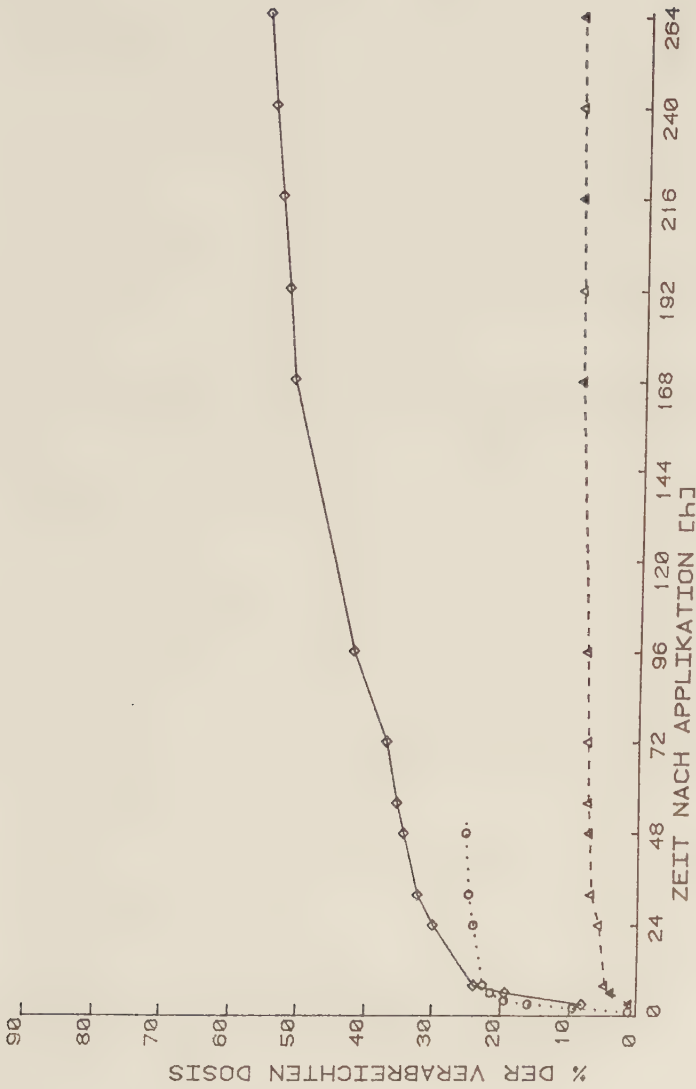


Abbildung 9: Versuch VII: Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure, in Expirationsluft ($\circ$), Urin ($\diamond$) und Kot (Δ).

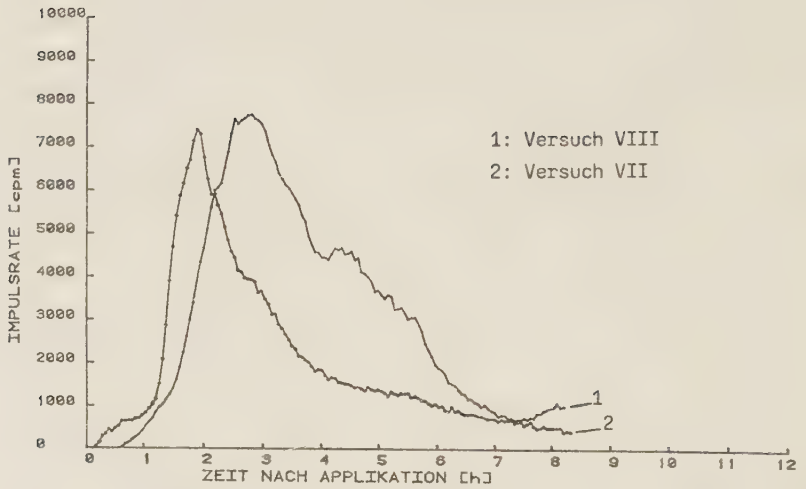


Abbildung 10: Zeitlicher Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation bei "Kasimir".

Im **achten Versuch** sollte der Affe Kasimir noch einmal die radioaktive Dosis von 925 kBq peroral erhalten, jedoch unter streßfreien Bedingungen. Deshalb wurde er eine Woche vor Versuchsbeginn täglich eingefangen und die Verabreichung der Ascorbinsäurelösung geübt. Außerdem wurde er immer wieder bis zu 2 Stunden in die Stoffwechselkammer verbracht, zusammen mit dem ihm kürzlich angepaarten Weibchen. Auch am Versuchstag wurden beide Tiere in die Kammer gesetzt. Kasimir zeigte anfangs keine so starke Erregung wie in seinem ersten Versuch und saß ruhig mit dem Weibchen auf der Sitzstange; nach etwa einer Stunde allerdings fing diese an, Schaumgummi auszusrufen, was er kurze Zeit darauf ebenfalls tat. Während des Spülvorgangs sprangen die Tiere wild hin und her und das Weibchen attackierte sogar ihren Partner. Über einen Zeitraum von fünf Stunden unternahm der Affe ständig Begattungsversuche am Weibchen. Sein Kotabsatz erfolgte dickbreiig, zum Teil auch leicht dünnflüssig. Die Futteraufnahme war über den gesamten Versuchszeitraum reduziert.

Innerhalb von 11 Tagen wurden 88,7 % der verabreichten Aktivität in Atemluft, Kot und Urin wiedergefunden. Der zeitliche Verlauf der Exkretion ist in Abbildung 11 kumulativ aufgetragen. Den jeweiligen Anteil an der Gesamtausscheidung in den drei Fraktionen zeigt Tabelle 18.

Die Exkretion über den Urin mit 47,5 % erwies sich als der Hauptausscheidungsweg, wobei das Maximum nach drei Stunden auftrat. Zwei Drittel davon waren nach 48 Stunden eliminiert. Die im Urin ermittelten Vitamin C-Metaboliten sind in ihrer prozentualen Verteilung in Tabelle 11 aufgeführt. Als $^{14}\text{CO}_2$ wurden 28,9 % des Tracers exhaliert mit einem deutlichen Maximum gegen Ende der zweiten Stunde, wobei die $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation erst 20-30 Minuten nach Applikation der Dosis einsetzte. In den ersten vier Stunden nach Versuchsbeginn waren 21,7 % ausgeschieden. Der zeitliche Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation in den ersten acht Stunden ist in Abbildung 10 dargestellt. Der Kot enthielt 12,3 % der markierten Ascorbinsäure, davon wurden etwa zwei Drittel in den ersten 32 Stunden ausgeschieden.

Im Serum wurde am 12. Versuchstag, bezogen auf das Gesamtserum, ein Anteil von 0,09 % der verabreichten ^{14}C -Aktivität nachgewiesen. Die Gewichtsabnahme des Affen betrug 11 % seines Körpergewichts.

In Tabelle 19 sind die in den jeweiligen Versuchen bei "Fitzgerald", "Mephisto" und "Kasimir" über die drei Ausscheidungswege eliminierten ^{14}C -Anteile, einschließlich der im Serum verbliebenen Aktivität, zusammengefaßt.

**Tabelle 18: Versuch VIII: Exkretion von ^{14}C -Aktivität über Atemluft, Urin und Kot
in % einer oral verabreichten 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei "Kasimir" nach
versuchter Gewöhnung an die Versuchsbedingungen**

Meßzeitraum (h nach Applikation)	Atemluft %	Urin %	Kot %	Gesamt %
0 - 1	0,8	15,3	1,2	31,7
1 - 2	5,4			
2 - 3	9,0			
3 - 4	6,5	3,0	3,8	17,5
4 - 6	4,2			
6 - 8	1,1	3,2	1,1	5,4
8 - 24	0,9	4,8	1,2	6,9
24 - 32	0,7	3,0	1,4	5,1
32 - 48	0,3	2,4	0,3	3,0
48 - 56		1,2	0,3	1,5
56 - 72		1,2	0,1	1,3
72 - 96		2,6	0,5	3,1
96 - 168		5,8	1,7	7,5
168 - 192		0,7	0,2	0,9
192 - 216		1,6	0,2	1,8
216 - 240		1,3	0,2	1,5
240 - 264		1,0	0,1	1,1
Nachspülung nach 48 h		0,2		0,2
Nachspülung nach 264 h		0,2		0,2
Summe	28,9	47,5	12,3	88,7



Abbildung 11: Versuch VIII: Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure, in Expirationsluft ($\circ$), Urin ($\diamond$) und Kot (Δ).

Tabelle 19: Prozentuale Ausscheidung von ^{14}C -Aktivität über die verschiedenen Exkretionswege bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen

Versuch	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Affe	Fitzgerald	Mephisto	Fitzgerald	Mephisto	Fitzgerald	Mephisto	Kasimir	Kasimir
Verabreichte Dosis (kBq)	925	925	370	370	925	925	925	925
Verabreichungsform	p.os	p.os	i.v.	i.v.	p.os	p.os	p.os	p.os
Bedingungen	1	3	1	1	2	2	2	3
$^{14}\text{CO}_2$ (48h)	10,20 %	27,50 %	7,50 %	4,40 %	37,10 %	39,30 %	25,20 %	28,90 %
^{14}C im Urin (11d)	28,20 %	38,20 %	52,70 %	84,30 %	26,00 %	47,80 %	56,30 %	47,50 %
^{14}C im Kot (11d)	8,80 %	20,30 %	6,30 %	7,10 %	8,10 %	7,30 %	10,00 %	12,3 %
^{14}C im Serum ⁴	1,00 %	0,03 %	0,06 %	0,05 %	0,06 %	0,07 %	0,07 %	0,09 %
Summe	48,20 %	86,03 %	66,56 %	95,85 %	71,26 %	94,47 %	91,57 %	88,79 %

¹ Gewöhnung an die Versuchsbedingungen; gemeinsame Haltung während des Versuchszeitraumes

² psychische Belastung; alleinige Haltung während des Versuchszeitraumes

³ Gewöhnung nicht erfolgreich

⁴ Serumaktivität am letzten Versuchstag

4. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden in Versuchen an drei männlichen Krallenen der Spezies *Saguinus fuscicollis* Aufschlüsse gewonnen über den Stoffwechsel bzw. die Ausscheidung von Vitamin C über Atemluft, Urin und Kot. Dazu wurde 1- ^{14}C -Ascorbinsäure peroral bzw. intravenös unter Streßbedingungen und nach Gewöhnung an die Versuchsbedingungen verabreicht.

Die applizierte ^{14}C -markierte Ascorbinsäure enthielt 211 μg "kalte" Ascorbinsäure bei peroraler Gabe bzw. 88 μg bei intravenöser Verabreichung, was keine nennenswerte Steigerung der Ascorbinsäureaufnahme bedeutet in Bezug auf die Vitamin C-Versorgung über das Futter von maximal 64 mg/Tag und Affe.

Die Streßbelastung der Tiere wurde im Einzelfall subjektiv durch Beobachtung von mit den Tieren vertrauten Personen bewertet, da objektivere Parameter, wie die Bestimmung des Cortisolblutspiegels, aus versuchstechnischen Gründen nicht herangezogen werden konnten.

4.1 $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung in der Atemluft; Einfluß von Streß

Sowohl bei peroraler als auch bei intravenöser Verabreichung der markierten Ascorbinsäure konnte eine Verstoffwechselung zu $^{14}\text{CO}_2$ nachgewiesen werden, wobei diese bei i.v.-Applikation mit 4,4-7,5 % deutlich unter der bei p.o.-Gabe mit 10,2-39,3 % lag. Bei beiden Applikationsformen kam es bereits wenige Minuten nach Verabreichung der Dosis zu einer $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation. Die Maxima traten dabei nach peroraler Verabreichung unter Streßeinfluß nach zwei Stunden, nach Gewöhnung an die Versuchsbedingungen nach vier Stunden ab Versuchsbeginn auf. Nach intravenöser Injektion kam es zu keinen ausgeprägten Maxima. In allen Versuchen wurden mindestens zwei Drittel der als $^{14}\text{CO}_2$ exhalierten Aktivität in den ersten vier Stunden ausgeschieden, außer im dritten Versuch, wo der Hauptanteil erst nach der 6. Stunde exhaliert wurde. Die $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalationsmaxima stimmen mit den Verhaltensweisen der Tiere überein: bei Aufregung stieg die $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung an. In vergleichbaren Untersuchungen an Krallenen der Spezies *Callithrix jacchus* (SIEMS, 1988) war die größte $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung nach 1-3 Stunden erreicht.

Beim Meerschweinchen setzt die CO_2 -Produktion ähnlich früh ein, jedoch ist die Höhe der Expiration unabhängig von der Applikationsart (HORNIG and HARTMANN, 1982). Beim Menschen wird das Maximum erst zwischen der 4. und 5. Stunde nach oraler Applikation erreicht (KALLNER et al., 1985), bei Makaken beginnt diese erst 5 Stunden nach oraler Gabe anzusteigen und erreicht nach 10 Stunden ein Maximum (TILLOTSON, 1978).

Die sehr früh einsetzende Oxidation zu $^{14}\text{CO}_2$ läßt auf eine präsystemische Verstoffwechselung der Ascorbinsäure in der Darmwand oder im Darm schließen. Da jedoch auch bei i.v.-Verabreichung beträchtliche Mengen als $^{14}\text{CO}_2$ exhaliiert wurden, und auch bereits wenige Minuten nach der Applikation beginnend, ist genauso von einer postresorptiven Decarboxylierung auszugehen. Dafür spricht auch die Tatsache, daß im III. Versuch die maximale $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung erst nach 6 Stunden auftrat und bis 48 Stunden anhielt, ebenso wie überhaupt in allen Versuchen auch am 2. Tag noch $^{14}\text{CO}_2$ gemessen wurde. Durch psychische Belastung der Tiere wurde die $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation gesteigert. Diese vermehrte $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation unter Streßbedingungen bestätigen Untersuchungen an Makaken.

Besonders auffällig waren deutliche individuelle Unterschiede im Verhalten der Affen in unseren Versuchen. Während sich Fitzgerald relativ gut an die Versuchsbedingungen gewöhnen ließ und daher im I. Versuch auch nur eine relativ geringe $^{14}\text{CO}_2$ -Oxidationsrate aufwies, gelang dies bei Mephisto und Kasimir nicht. Mephisto zeigte von Anfang an ein wesentlich unruhigeres und aggressiveres Verhalten und versuchte mit aller Kraft aus der Stoffwechselkammer zu entkommen, so daß schon in seinem ersten, eigentlich streßfreien Versuch eine sehr hohe $^{14}\text{CO}_2$ -Oxidationsrate erreicht wurde. Möglicherweise hängen die individuellen Unterschiede im Verhalten der beiden Tiere mit der Tatsache zusammen, daß die Eltern von Fitzgerald laborgeboren, diejenigen von Mephisto dagegen Wildfänge sind, und dieser somit noch ursprünglicheres Abwehrverhalten zeigt. Beim Affen Kasimir wurde die maximale $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation in beiden Versuchen jeweils nach der zweiten Stunde erreicht. Es war nicht gelungen, ihn an die Versuchsbedingungen zu gewöhnen; im Gegenteil, er wies eine leicht höhere $^{14}\text{CO}_2$ -Oxidationsrate in seinem eigentlich streßarmen Versuch auf. Möglicherweise wurde seine Erregung erst richtig forciert durch das Zusammensetzen mit seinem erst kürzlich angepaarten Weibchen, das außerdem ein sehr unruhiges und dominantes Verhalten zeigte. Dadurch wurde eine psychische Beruhigung Kasimirs unmöglich gemacht. Somit stellte der zweite Versuch mit Kasimir unfreiwilligerweise praktisch eine Wiederholung des ersten dar, mit auch gut reproduzierten ^{14}C -Ausscheidungswerten.

Die Versuche V und VI müssen mit gewissen Einschränkungen betrachtet werden, da der Vitamin ^{14}C -Standard in diesen beiden Versuchen nur eine radiochemische Reinheit von etwa 70 % aufwies. Aus Untersuchungen von BAKER et al. (1963, 1966) geht nämlich hervor, daß nur dann hohe $^{14}\text{CO}_2$ -Raten beim Menschen gemessen werden, wenn die verabreichte Ascorbinsäure verunreinigt ist bzw. ein oxidativer Abbau nach 36-72-stündiger Lagerung in wässriger Lösung stattgefunden hat. Sofort nach dem Auflösen verabreichte, frische Ascorbinsäure hingegen erzeugte nur minimale Stoffwechselung zu $^{14}\text{CO}_2$. Da aber in unseren anderen Versuchen, in denen die Tiere psychischer Belastung ausgesetzt waren, ebenfalls eine hohe $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation erzielt wurde, (allerdings nicht so hoch wie in den Versuchen V und VI), und die radiochemische Reinheit des Standards hier mindestens 91 % aufwies, kann man davon ausgehen, daß es tatsächlich zu einer höheren Stoffwechselung zu $^{14}\text{CO}_2$ unter Streßbedingungen kommt. Dafür sprechen auch die Ergebnisse von GEYER (1987) und SIEMS (1988), wo eine Erhöhung der respiratorischen Exkretion unter Streßbedingungen bzw. Krankheit nachgewiesen werden konnte.

Daraus kann insgesamt geschlossen werden, daß Streß wahrscheinlich Veränderungen im Vitamin C-Stoffwechsel, im Sinne eines erhöhten Katabolismus insbesondere zu CO_2 , induziert; der Mechanismus ist bislang jedoch ungeklärt.

4.2 ^{14}C -AUSSCHIEDUNG UND ASCORBINSÄURE-METABOLITEN IM URIN

Die ^{14}C -Exkretion über den Harn stellte mit Ausnahme von Versuch V den Hauptausscheidungsweg von Ascorbinsäure und deren Metabolite dar, wobei die maximalen Werte 3-6 Stunden sowohl nach peroraler als auch nach intravenöser Applikation der Dosis auftraten. Die ^{14}C -Eliminierung verlief bei i.v.-Gabe durchschnittlich nicht schneller als bei peroraler Verabreichung, wonach auf eine relativ rasche Resorption des Vitamins nach oraler Applikation geschlossen werden kann. Jedoch wurde bei i.v.-Verabreichung insgesamt mehr Aktivität über den Urin ausgeschieden als bei p.o.-Gabe. In früheren Untersuchungen erwies sich ebenfalls die Ausscheidung mit dem Urin als Hauptexkretionsweg für $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure (SIEMS, 1988).

Beim Affen Mephisto verlief die Ausscheidung bei beiden Applikationsarten durchschnittlich schneller als bei Fitzgerald. Die ^{14}C -Exkretion mit dem Urin entsprach

bei Kasimir in den ersten Stunden des Versuchs der schnelleren Ausscheidung von Mephisto, in den folgenden jedoch der langsameren von Fitzgerald. Insgesamt war die Ausscheidung von ^{14}C -Aktivität im ersten Versuch bei Kasimir langsamer als in seinem zweiten. Diese Ergebnisse weisen auf große individuelle Unterschiede im Stoffwechsel der Ascorbinsäure bei den einzelnen Tieren hin. Der Affe Fitzgerald zeigte gegenüber den beiden anderen Tieren in allen Versuchen sowohl eine niedrigere Wiederfindung im Urin als auch eine geringere Gesamtwiederfindungsrate, was bei diesem Affen auf eine höhere Retention der Ascorbinsäure schließen läßt. Dafür spricht auch die im ersten Versuch mit der niedrigsten Gesamtwiederfindung höhere Aktivitätsfindung im Serum. Auch in Untersuchungen von GEYER (1987) wurden z.T. sehr unterschiedliche Wiederfindungsraten ermittelt. Es muß davon ausgegangen werden, daß sich trotz gleicher Vitamin C-Versorgung ein individuell unterschiedlicher Status etablieren kann und sich daraus abweichende biologische Halbwertszeiten der Ascorbinsäure ergeben, die eine unterschiedlich schnelle Ausscheidung des Vitamins bedingen. Diese unterschiedlichen Ausscheidungswerte in unseren Versuchen lassen sich gut mit der individuellen Anpassungsfähigkeit der Affen an die Versuchsbedingungen (s. 4.1) in Einklang bringen. Aufgrund der großen Aufregung nahmen die Tiere in den ersten 48 Stunden des Versuchs keine Pellets auf, nur etwas Banane und Bonbons. Auch nach dem Umsetzen in den Stoffwechselkäfig am dritten Tag, war die Pelletaufnahme reduziert, so daß alle Tiere aufgrund der geringen Futteraufnahme bis Versuchsende bis zu 15 % ihres Körpergewichts abgenommen hatten.

SIEMS (1988) zog bei Marmosets einen direkten Vergleich zwischen der Urinexkretion nach Gewöhnung an die Versuchsbedingungen und nach Streßbelastung. Hiernach war die Ausscheidung nach Gewöhnung deutlich höher als unter Streßbedingungen, d.h. das Verhältnis zwischen $^{14}\text{CO}_2$ -Rate und ^{14}C -Ausscheidung im Urin war zugunsten des Urins verschoben. Da in unseren Untersuchungen keine zwischen den Tieren vergleichbar hohe Wiederfindungsrate ermittelt wurde, kann eine solche Aussage nur bedingt getroffen werden. Es steht jedoch fest, daß in allen Versuchen und besonders unter dem Einfluß von Streß eine vermehrte Verstoffwechselung des Vitamins erfolgte: Es kam zu verstärkter $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation und erhöhter Ausscheidung von Metaboliten im Urin. Dabei läßt sich eine negative Korrelation zwischen der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation und der relativen Oxalsäureausscheidung herstellen. Daraus kann man schließen, daß zwei verschiedene Abbauewege für Vitamin C, nämlich zu CO_2 und zu Oxalat, vorliegen, die streßabhängig in unterschiedlichem Maße eingeschlagen werden. Im II. und III. Versuch gelang es nicht, diese Beziehung zu belegen, da aufgrund unzureichender

Aktivitätsmengen in einigen Meßzeiträumen keine Aussage über die Oxalatausscheidung gemacht werden konnte. Auch bei SIEMS (1988) liegt der Oxalatanteil im Urin unter dem Einfluß von Streß höher, jedoch nie so hoch wie in unseren Versuchen. In unseren Untersuchungen konnten leider die Metabolite in den eigentlichen Streßversuchen (V und VI) nicht ermittelt werden, da die radiochemische Reinheit des ^{14}C -Standards nicht ausreichte, diese eindeutig zu identifizieren.

Neben der Oxalsäure konnte mittels HPLC außer der Ascorbinsäure noch die Dehydroascorbinsäure im Urin identifiziert werden. Das von Probe zu Probe wechselnde prozentuale Verhältnis von Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure ist auf das bekannte Redoxsystem zurückzuführen, in dem Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure nichtenzymatisch ineinander übergehen können. Weitere Ascorbinsäuremetaboliten traten in keinem der Versuche auf.

In den Untersuchungen von SIEMS (1988) wurden in allen Meßzeiträumen pro Versuch durchschnittlich die gleichen relativen Anteile der Metabolite ermittelt, wobei Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure zusammen in allen Versuchen höhere Anteile aufwiesen als die Oxalsäure. Der Autor schloß daraus, daß bei der Vitamin C-Hochversorgung, die bei seinen Versuchstieren durch höhere Futteraufnahme während des Versuchs besser aufrechterhalten wurde als bei unseren Tieren, der Schwellenwert im Serum für die Exkretion überschritten und Vitamin C unverstoffwechselt ausgeschieden wurde. In unseren Untersuchungen ist im Gegensatz dazu die relative Verteilung der Metabolite pro Meßzeitraum unterschiedlich und die prozentuale Oxalatausscheidung wesentlich höher als die Ausscheidung von unverstoffwechselter Ascorbinsäure.

Aus dieser unterschiedlichen prozentualen Verteilung der Vitamin C-Metaboliten im Urin bei den beiden Krallenaffenspezies, und vor allem aufgrund des weitaus höheren Oxalatanteils bei *Saguinus fuscicollis*, kann geschlossen werden, daß bei dieser Spezies eine verstärkte Verstoffwechselung der Ascorbinsäure besteht. Dies stimmt überein mit dem streßanfälligeren Verhalten von *Saguinus fuscicollis* im Vergleich zu *Callithrix jacchus* und könnte auf einen höheren Vitamin C-Bedarf der Tamarine hinweisen. Letzteres wurde schon von KERN (1986) vermutet. Dafür sprechen die niedrigeren Serumascorbatspiegel von *Saguinus fuscicollis* gegenüber *Callithrix jacchus* bei gleicher Vitamin C-Versorgung.

Tiere, die Vitamin C selbst synthetisieren können, produzieren bei Streß mehr Vitamin C als physiologischerweise und Vitamin C-abhängige Tiere bilden unter Streßbedingungen vermehrt Vitamin C-Metaboliten (TUCKER et al., 1987).

4.3 ¹⁴C-AUSSCHIEDUNG IM KOT

Der Hauptanteil der in den Fäzes gemessenen Aktivität war meist nach 32, spätestens nach 56 Stunden ausgeschieden, wobei ¹⁴C-Aktivität bei beiden Applikationsarten bereits wenige Stunden nach Versuchsbeginn im Kot nachzuweisen war. Bei peroraler Verabreichung der 1-¹⁴C-Ascorbinsäure lag die Exkretion mit 7,3-20,3 % höher als bei intravenöser Applikation mit 7,1-8,1 %. Die fäkale Ausscheidung verlief bei den Affen Mephisto und Kasimir nach oraler Gabe durchschnittlich schneller als bei Fitzgerald, was bei diesen Tieren wahrscheinlich durch die weichere Kotkonsistenz bedingt ist, die ihre Ursache in einem höheren Streßzustand haben kann. Dieser Befund fügt sich gut in das Ascorbinsäure-Stoffwechselformat ein, das den Affen Fitzgerald von den beiden anderen unterscheidet (s. 4.1).

Nach intravenöser Applikation, die nur bei Mephisto und Fitzgerald durchgeführt wurde, verlief die ¹⁴C-Elimination im Kot bei beiden in etwa gleich schnell. Die höchste Ausscheidung mit dem Kot zeigte Mephisto nach peroraler Aufnahme der markierten Ascorbinsäure; die niedrigsten Werte wurden bei Fitzgerald ermittelt.

Die relativ hohen Meßwerte stimmen überein mit früheren Untersuchungen an Krallenaffen, in denen 2,5-22,3 % (GEYER, 1987) bzw. 2,5-10,3 % (SIEMS, 1988) der Aktivität nach oraler Gabe des Tracers gemessen wurden.

Im Gegensatz dazu stehen die niedrigen Wiederfindungsraten in den Fäzes beim Menschen mit weniger als 1 % (HELLMAN and BURNS, 1958) und beim Meerschweinchen (HORNIG and HARTMANN, 1982), wo nach peroraler Aufnahme von 1-¹⁴C-Ascorbinsäure nur 3 % der Aktivität im Kot ausgeschieden wurden. Makaken schieden 2,5 % der gegebenen Dosis in den ersten 24 Stunden nach oraler Applikation aus, wobei die Exkretion nur bei sehr hoher zusätzlicher Vitamin C-Gabe noch auf 4,4 % gesteigert werden konnte (TILLOTSON and O'CONNOR, 1981).

Die hohe ¹⁴C-Ausscheidung bei Mephisto im II. Versuch hängt wahrscheinlich mit der Kotkonsistenz zusammen. Da das Tier durch die enorme Aufregung fast dünnbreiigen Kot absetzte, ergab sich durch die schnellere Darmpassage eine geringere

Resorptionsrate. So waren zwei Drittel der Aktivität bereits nach 24 Stunden ausgeschieden. Eine Kontamination von Kot mit Urin kann auch nicht völlig ausgeschlossen werden, obwohl der Zeitpunkt der maximalen Exkretion via Kot nicht mit dem Zeitpunkt der maximalen Ausscheidung via Urin zusammenfällt. Auch in den Versuchen VII und VIII bei dem Affen Kasimir war die Sammlung der Kotproben nicht zu 100 % möglich, da der Kot teilweise nicht geformt war. So könnten auch hier die relativ hohen Aktivitätswerte, neben einer schnelleren Darmpassage, durch eine eventuelle Kontamination mit Urin bedingt sein, wobei aber zumindest in Versuch VII die höchsten Werte im Kot erst nach den maximalen Werten im Urin ermittelt wurden. Außerdem wurde in diesen beiden letzten Versuchen der Kot sofort nach dem Absatz gesammelt, um die Kontamination mit dem Urin weitestgehend zu vermeiden, so daß man davon ausgehen kann, daß der größte Teil der ^{14}C -Aktivität durch tatsächliche fäkale Ausscheidung bedingt ist. Dies entspricht den Untersuchungen von GEYER (1987), in denen z.T. auch hohe Aktivitätswerte im Kot gemessen wurden.

Da auch bei intravenöser Verabreichung der markierten Ascorbinsäure und noch in den letzten Tagen des Versuchszeitraumes ^{14}C -Aktivität im Kot nachgewiesen werden konnte, wird eine Sekretion von Ascorbinsäure und/oder ihrer Metabolite in den Darm vermutet. Dies wird in Untersuchungen von GEYER (1987) und SIEMS (1988) bestätigt, wo angenommen wurde, daß es lange nach Gleichverteilung einer verabreichten 1- ^{14}C -Ascorbinsäure in den Körpergeweben zur Sekretion von Ascorbinsäure und/oder deren Metabolite in den Darm kommt.

4.4 BEWERTUNG DER KINETISCHEN PARAMETER

In unseren Untersuchungen können in einigen Versuchen zwei, in anderen drei Kompartimente ermittelt werden. Jede anhand der Ganzkörperretention errechnete Ausgleichsfunktion ist die Summe von zwei bzw. drei Exponentialfunktionen. Die semilogarithmisch aufgetragenen Retentionskurven sind in den Abbildungen 12, 13 und 14 wiedergegeben. Die Kurven zeigen in den Versuchen I, II, III, V und VI einen dreiphasigen Verlauf, in den Versuchen IV, VII und VIII nur einen zwei-phasigen. Das bedeutet, daß in ersteren die Verteilung der Aktivität in drei Kompartimenten erfolgte, in letzteren dagegen nur in zweien, wobei die Eliminierung von ^{14}C -Aktivität aus dem zweiten Verteilungsraum in diesen Versuchen bei Versuchsende die Ausscheidung aus dem dritten Kompartiment noch überdecken könnte.

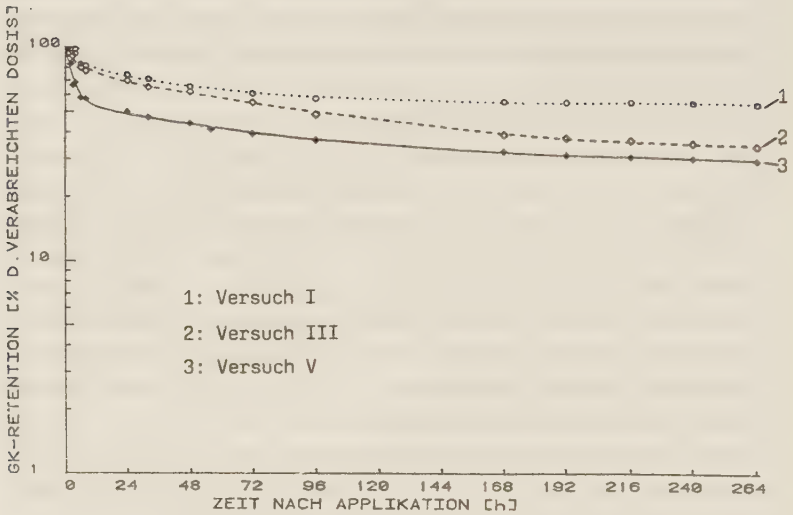


Abbildung 12: Zeitlicher Verlauf der ^{14}C -Retention nach Zufuhr von 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei "Fitzgerald".

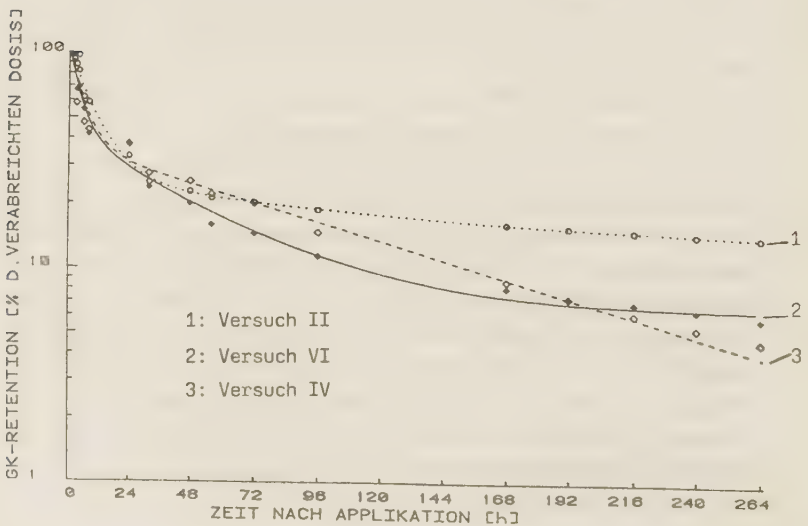


Abbildung 13: Zeitlicher Verlauf der ^{14}C -Retention nach Zufuhr von 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei "Mephisto".

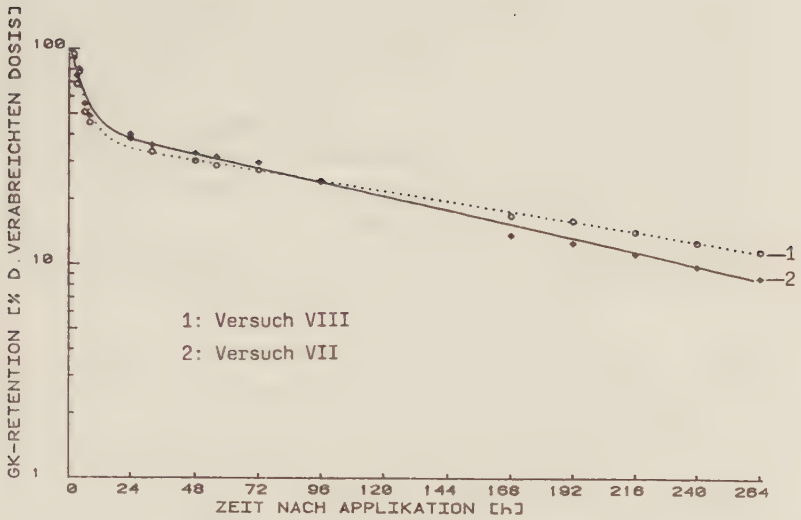


Abbildung 14: Zeitlicher Verlauf der ^{14}C -Retention nach Zufuhr von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure bei "Kasimir".

In vorangehenden Untersuchungen von GEYER (1987) bzw. SIEMS (1988) konnte für Krallenaffen ein 2-Kompartimenten-Modell bzw. ein 2- und 3-Kompartimenten-Modell erstellt werden. GEYER (1987) konnte nur die Existenz von zwei Kompartimenten ermitteln, da er seinen Berechnungen nur die Ergebnisse der ersten 96 Stunden des Versuchs zugrunde legte, so daß die Möglichkeit eines dritten Verteilungsraumes nicht erkannt wurde. SIEMS (1988) dagegen gelang es durch Verlängerung des Versuchszeitraumes auf 264 Stunden drei Kompartimente zu ermitteln. Auch in unseren Untersuchungen wurden die Meßwerte über einen Zeitraum von 264 Stunden den Berechnungen zugrunde gelegt, wobei bis 96 Stunden nach Applikation der aktiven Dosis ebenfalls nur zwei Kompartimente ermittelt werden konnten.

Entsprechend der Definition von KALLNER et al. (1982) könnte das erste Kompartiment, welches den ersten steilen Abschnitt der Kurve bestimmt, den Verteilungsraum der Ascorbinsäure nach Resorption aus dem Darm bzw. nach Aufnahme ins Blut darstellen. Der zweite, flachere Abschnitt der Kurve würde von dem Kompartiment bestimmt, in dem die Metabolisierung der Ascorbinsäure stattfindet; der letzte Abschnitt würde vom Speicherkompartiment bestimmt werden. Die biologischen Halbwertszeiten (HWZ) der einzelnen Kompartimente sind in Tabelle 20 aufgeführt, wobei die HWZ für den Speicher während unseres Meßzeitraumes nicht zuverlässig ermittelt werden konnten. Es kann nur die Aussage gemacht werden, daß diese HWZ sehr lange sind, z.B. 6500 Stunden in Versuch II. In den anderen Versuchen lagen die Werte noch darüber, konnten jedoch nicht ermittelt werden. Eine exakte Bestimmung dieser Halbwertszeiten wäre nur mit einer erheblichen Verlängerung des Meßzeitraumes sowie durch Erhöhung der applizierten Aktivitätsmenge zu erreichen. Im Gegensatz dazu konnten die HWZ des dritten Kompartiments bei SIEMS (1988) mit 200-538 Stunden angegeben werden, bei vergleichbaren Versuchsbedingungen, aber anderer Krallenaffenspezies. Die HWZ des ersten und des zweiten Kompartiments in unseren Versuchen waren durchschnittlich länger als die von SIEMS (1988) für *Callithrix jacchus* ermittelten Werte. Übereinstimmend mit den Ergebnissen von GEYER (1987) ergibt sich, daß sich die Halbwertszeiten des ersten Kompartiments unter Einfluß von Streß verkürzen.

Obwohl die Halbwertszeiten in unseren Versuchen für die drei Kompartimente länger sind als in den von SIEMS (1988) vorgenommenen Untersuchungen, werden trotzdem bei uns am Ende des Versuchszeitraumes niedrigere Retentionswerte im Ganzkörper (GK) erreicht. Dies deutet auf unterschiedlich große Pools der Kompartimente bei unseren Tieren hin. So muß das Kompartiment mit der jeweils kürzesten HWZ (= 1.

Tabelle 20: Halbwertszeiten der Kompartimente (h)

Versuch	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Affe	Fitzgerald	Mephisto	Fitzgerald	Mephisto	Fitzgerald	Mephisto	Kasimir	Kasimir
Kompartiment 1	3,5	6,9	4,3	3,9	2,1	3,0	3,6	3,5
Kompartiment 2	37	89	131	81	63	34	112	154
Kompartiment 3	x	x	x	.*	x	x	.*	.*

x sehr lange Halbwertszeiten, die nur durch Verlängerung des Meßzeitraumes sowie durch Erhöhung der applizierten Aktivitätsmenge bestimmt werden könnten.

* ein drittes Kompartiment konnte hier nicht bestimmt werden, da die Eliminierung von ^{14}C -Aktivität aus dem zweiten Verteilungsraum bei Versuchsende die Ausscheidung aus dem dritten Kompartiment noch überdeckte.

Kompartiment), berechnet mit einem Anteil von 62-78 % am Gesamtpool, wesentlich größer gewesen sein als in den Untersuchungen von SIEMS (1988). Auch die prozentualen Anteile des zweiten Kompartiments am Gesamtpool ergaben Werte von durchschnittlich 30 %, so daß für den dritten Verteilungsraum nur noch ein Anteil von etwa 10 % am Gesamtpool ermittelt wurde. Dies bedeutet, daß bei *Saguinus fuscicollis* die Speicherkapazität für Ascorbinsäure weit geringer ist, was aus den GK-Retentionskurven am Ende des Versuchszeitraumes hervorgeht. Insgesamt kann gesagt werden, daß der Umsatz von Ascorbinsäure bei diesen Tieren länger dauert, die Gesamtmenge, die umgesetzt wird, jedoch größer ist.

Der Affe Fitzgerald zeigte in allen Versuchen eine höhere Retention als die beiden anderen Tiere. Dies stimmt überein mit seinem wesentlich ruhigeren Verhalten im Vergleich zu den anderen Affen.

Die Tatsache, daß schon 60-80 % des Ascorbinsäurepools im 1. Kompartiment und etwa 30 % im 2. Kompartiment umgesetzt wurden, und der Befund, daß die biologischen Halbwertszeiten bei gleicher Vitamin C-Versorgung im Vergleich zu *Callithrix jacchus* länger sind, legt die Vermutung nahe, daß für *Saguinus fuscicollis* ein erhöhter Vitamin C-Bedarf vorliegt. Dies wird außerdem gestützt durch den bei diesen Tieren beobachteten gesteigerten Vitamin C-Katabolismus im Vergleich zu *Callithrix jacchus*. Für einen höheren Vitamin C-Bedarf sprechen außerdem die bei dieser Spezies ermittelten viel geringeren Serumascorbatspiegel im Vergleich zu den Marmosets. So beträgt der Vitamin C-Serumspiegel unter einer Vitamin C-Versorgung von 4000 ppm bei gesunden Tieren der Spezies *Saguinus fuscicollis* $2,06 \pm 0,55$ mg/100 ml Serum ($n=16$) gegenüber *Callithrix jacchus* mit $2,43 \pm 0,54$ mg/100 ml Serum ($n=26$) (FLURER and ZUCKER, 1989).

4.5 SCHLUSSFOLGERUNGEN

Innerhalb der untersuchten Krallenaffenspezies traten starke individuelle Schwankungen sowohl im Verhalten als auch damit einhergehend in den Stoffwechselvorgängen auf. Es können jedoch eindeutige Tendenzen, vor allem bezüglich des Unterschieds zwischen den beiden Krallenaffenspezies *Saguinus fuscicollis* und *Callithrix jacchus* gesehen werden. *Callithrix jacchus*-Affen waren in vergleichbarer Weise von SIEMS (1988) untersucht worden.

Saguinus fuscicollis reagiert allgemein auf äußere Stressoren weitaus empfindlicher als *Callithrix jacchus*, was sich sofort in ängstlichem bis aggressivem Verhalten äußert, meist einhergehend mit erhöhter Darmmotilität, reduzierter Futteraufnahme und dadurch bedingtem Gewichtsverlust. Diese Affen zeigen einen erhöhten Vitamin C-Katabolismus, der durch den Einfluß von Streß noch gesteigert werden kann: dies äußert sich vor allem in einer verstärkten CO_2 -Exhalation. Sowohl unter Streß als auch nach Gewöhnung an die Versuchsbedingungen zeigt sich bei gleicher Vitamin C-Versorgung eine weitaus höhere Verstoffwechselung zu Oxalsäure als bei der Spezies *Callithrix jacchus*.

Der höhere Vitamin C-Katabolismus sowie die niedrigeren Retentionswerte für Ascorbinsäure, bei gleichzeitig größerem Umsatz des Vitamins in den ersten beiden Kompartimenten, weisen auf einen erhöhten Vitamin C-Bedarf von *Saguinus fuscicollis* gegenüber *Callithrix jacchus* hin.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Für die Untersuchung des Ascorbinsäurestoffwechsels an drei männlichen Tieren der Krallenaffenspezies *Saguinus fuscicollis* wurde nach peroraler sowie intravenöser Applikation von 1- ^{14}C -Ascorbinsäure die Ausscheidung von ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Urin und Kot quantitativ bestimmt. Die Versuche erfolgten jeweils nach Gewöhnung an die Versuchsbedingungen bzw. unter psychischer Belastung. Die Spezies *Saguinus fuscicollis* erwies sich dabei als sehr streßanfällig.

Unter Streßbedingungen metabolisierten die Tiere die Ascorbinsäure nach peroraler Verabreichung vermehrt zu CO_2 . Auch nach intravenöser Injektion erfolgte eine zwar geringere, jedoch ausgeprägte CO_2 -Produktion, was sowohl für eine präresorptive Decarboxylierung bei peroraler Gabe als auch für die systemische CO_2 -Produktion spricht.

Saguinus fuscicollis zeigte eine höhere Verstoffwechselung der Ascorbinsäure zu Oxalsäure als, unter vergleichbaren Bedingungen, die nahe verwandte Krallenaffenspezies *Callithrix jacchus*. Hauptausscheidungsweg für ^{14}C -Aktivität war der Urin; neben Oxalsäure konnten unverstoffwechselte Ascorbinsäure und die Dehydroascorbinsäure nachgewiesen werden. Andere Metabolite traten nicht auf.

Durch die Auswertung der kinetischen Parameter ließ sich ein 2- bzw. 3-Kompartimenten-Modell erstellen mit einem initialen, rasch austauschenden Kompartiment (Halbwertszeit 2,1 - 6,9 h), einem zweiten, langsam austauschenden Verteilungsraum (Halbwertszeit 34 - 154 h), und einem dritten Kompartiment mit der längsten, nicht bestimmbareren Halbwertszeit.

Saguinus fuscicollis zeigte wesentlich niedrigere Ganzkörperretentionswerte bei gleichzeitig höherem Anteil des Ascorbinsäureumsatzes im ersten und zweiten Kompartiment, was einen erhöhten Vitamin C-Bedarf für *Saguinus fuscicollis* im Vergleich zu *Callithrix jacchus* nachweist.

SUMMARY

Studies on the ascorbic acid metabolism in the saddle-backed tamarin (*Saguinus fuscicollis*) after oral and intravenous application of 1-¹⁴C-ascorbic acid

To investigate the metabolism of ascorbic acid, 1-¹⁴C-labeled ascorbic acid was given either orally or intravenously to three male saddle-backed tamarins (*Saguinus fuscicollis*). The excretion of ¹⁴C-activity was measured quantitatively in expired air, urine and feces. The trials were performed after the animals got accustomed to the experimental conditions or when under stress conditions. *Saguinus fuscicollis* proved to be very susceptible to stress.

In the case that the animals were stressed after oral ascorbic acid administration, the decay of ascorbic acid to CO₂ occurred to a higher degree. Intravenous injection yielded a lower but marked production of CO₂. This demonstrates that there does exist most probably a preabsorptive way of decarboxylation, after oral intake, as well as there is a systemic production of carbon dioxide.

Saguinus fuscicollis showed a higher rate of catabolism of ascorbic acid to oxalic acid than the closely related callitrichid monkey *Callithrix jacchus*, tested under comparable conditions. Elimination via urine was the main route of excretion of ¹⁴C-activity. Besides oxalic acid, unmetabolized ascorbic acid and dehydroascorbic acid could be found in the urine; no other metabolite appeared.

Evaluating the kinetic parameters, a model with two or three compartments, respectively, resulted. There can be demonstrated an initial, fast exchanging distribution space (half-life 2,1 - 6,9 hours), a second, slow one (half-life up to 154 hours) and a third compartment, where the half-life was too long to be definable.

Saguinus fuscicollis showed significantly lower values of total body retention of ascorbic acid, coinciding with a higher rate of ascorbic acid turnover in the first and second compartment. This demonstrates a higher requirement of vitamin C for *Saguinus fuscicollis* when compared to *Callithrix jacchus*.

LITERATURVERZEICHNIS

- ABT, A.F., S. von SCHUCHING and T. ENNS, 1962
L-ascorbic -1-¹⁴C acid catabolism in the Rhesus Monkey.
Nature 193, 1178-1179
- ABT, A.F., S. von SCHUCHING and T. ENNS, 1963
Vitamin C requirements of man re-examined. New values based on previously unrecognized exhalatory excretory pathway of ascorbic acid.
Am. J. Clin. Nutr. 12, 21-29
- BÄSSLER, K.H. und K. LANG, 1981
Ascorbinsäure (Vitamin C).
In: Vitamine, 2. Auflage (Ed.: K.H. Bässler), Dr. D. Steinkopf-Verlag, Darmstadt
- BAGGIOLINI, M., 1965
Eine einfache Technik für die Absorption von ¹⁴CO₂ und dessen direkte Messung im Flüssigkeits-Szintillationszähler.
Experientia 21, 731-733
- BAHN, R.C. and D. GLICK, 1954
Studies in histochemistry: effects of stress conditions, ACTH, cortisone and desoxycorticosterone on the quantitative histological distribution of ascorbic acid in adrenal glands of rat and monkey.
Endocrinology 54, 672-684
- BAKER, E.M., N.G. LEVANDOSKI and H.E. SAUBERLICH, 1963
Respiratory catabolism in man of the degradative intermediates of L-ascorbic-1-¹⁴C acid.
P.S.E.B.M. 113, 379-383
- BAKER, E.M., J.C. SAARI and B.M. TOLBERT, 1966
Ascorbic acid metabolism in man.
Am. J. Clin. Nutr. 19, 371-378
- BAKER, E.M., R.E. HODGES, J. HOOD, H.E. SAUBERLICH and S.C. MARCH, 1969
Metabolism of ascorbic-1-¹⁴C-acid in experimental human scurvy.
Am. J. Clin. Nutr. 22, 549-558

BAKER, E.M., R.E. HODGES, J. HOOD, H.E. SAUBERLICH, S.C. MARCH and J.E. CANHAM, 1971a

Metabolism of ^{14}C - and ^3H -labeled L-ascorbic acid in human scurvy.
Am. J. Clin. Nutr. 24, 444-454

BAKER, E.M., D.C. HAMMER, S.C. MARCH, B.M. TOLBERT and J.E. CANHAM, 1971b

Ascorbate sulfate: a urinary metabolite of ascorbic acid in man.
Science 173, 826-827

BAKER, E.M., J.E. HALVER, D.O. JOHNSEN, B.E. JOYCE, M.K. KNIGHT and B.M. TOLBERT, 1975

Metabolism of ascorbic acid and ascorbic-2-sulfate in man and the subhuman primate.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 258, 72-80

BARNES, M.J., 1975

Function of ascorbic acid in collagen metabolism.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 258, 264-277

BERG, D., 1989

Persönliche Mitteilung

BIRNEY, E.C., R. JENNESS and I.D. HUME, 1979

Ascorbic acid biosynthesis in the mammalian kidney.
Experientia 35, 1425-1426

BOURNE, G.H., 1949

Vitamin C and Immunity.
Brit. J. Nutr. 2, 341-347

BRACK, M., 1984

Krankheiten nichthumaner Primaten - Skorbut.
Kleintierpraxis 29, 385-388

BROQUIST, H.P., 1982

Carnitine biosynthesis and function.
Fed. Proc. 41, 2840-2842

BRUBACHER, G. und D. SCHLETTWEIN-GSELL, 1971

Untersuchungen über die Vitaminversorgung alter Menschen.
Aktuelle Gerontologie 1, 461-467

- BURNS, J.J., H.B. BURCH and C.G. KING, 1951
The metabolism of 1-¹⁴C-L-ascorbic acid in guinea pigs.
J. Biol. Chem. 191, 501-514
- CATHCART, R.F., 1984
Vitamin C in the treatment of Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS).
Medical Hypotheses 14, 423-433
- CHATTERJEE, I.B., 1973
Vitamin C synthesis in animals: evolutionary trend.
Science and Culture 39, 210-212
- CLEMETSON, C.A.B., 1980
Histamine and ascorbic acid in human blood.
J. Nutr. 110, 662-668
- CURTIN, C.O.'H. and C.G. KING, 1955
The metabolism of ascorbic acid-1-¹⁴C and oxalic acid-C¹⁴ in the rat.
J. Biol. Chem. 216, 539-548
- DAYTON, P.G., M.M. SNELL and J.M. PEREL, 1966
Ascorbic and dehydroascorbic acids in guinea pigs and rats.
J. Nutr. 88, 338-344
- DEANA, R., B.S. BHARAJ, Z.H. VERJEE and L. GALZIGNA, 1975
Changes relevant to catecholamine metabolism in liver and brain of ascorbic acid deficient guinea-pigs.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 45, 175-182
- DEGKWITZ, E., 1985
Neue Aspekte der Biochemie des Vitamin C.
Z. Ernährungswiss. 24, 219-230
- DEGKWITZ, E., 1987
Some effects of vitamin C may be indirect, since it affects the blood levels of cortisol and thyroid hormones.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 498, 471-472

- DE JONG, L., S.P.J. ALBRACHT and A. KEMP, 1982
Prolyl 4-hydroxylase activity in relation to the oxidation state of enzyme-bound iron. The role of ascorbate in peptidyl proline hydroxylation.
Biochim. Biophys. Acta 704, 326-332
- DE KLERK, W.A., J.P. DU PLESSIS, J.J. VAN DER WATT, A. DE JAGER and N.F. LAUBSCHER, 1973a
Vitamin C requirements of the Vervet Monkey (*Cercopithecus aethiops*) under experimental conditions.
S. Afr. Med. J. 47, 705-708
- DE KLERK, W.A., J.P. KOTZE, M.J. WEIGHT, I.V. MENNE, M.J.A. MATTHEWS and T. MC DONALD, 1973b
The influence of various dietary ascorbic acid levels on serum ascorbic acid and serum cholesterol values of the baboon (*Papio ursinus*) during captivity.
S. Afr. Med. J. 47, 1503-1506
- DOST, F.H., 1968
Grundlagen der Pharmakokinetik. (Ed.: F.H. Dost), Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- ELLIOT, O., N.J. YESS and D.M. HEGSTED, 1966
Biosynthesis of ascorbic acid in the tree shrew and slow loris.
Nature 212, 739-740
- ENGLARD, S. and S. SEIFTER, 1986
The biochemical functions of ascorbic acid.
Ann. Rev. Nutr. 6, 365-406
- FAZIO, V., D.M. FLINT and M.L. WAHLQVIST, 1981
Acute effects of alcohol on plasma ascorbic acid in healthy subjects.
Am. J. Clin. Nutr. 34, 2394-2396
- FLURER, C., R. SCHEID and H. ZUCKER, 1983
Evaluation of a pelleted diet in a colony of marmosets and tamarins.
Lab. Anim. Sci. 33, 264-267
- FLURER, C.J. and H. ZUCKER, 1989
Ascorbic acid in a new world monkey family: species difference and influence of stressors on ascorbic acid metabolism.
Z. Ernährungswiss., im Druck

FRIEDMAN, G.J., S. SHERRY and E.P. RALLI, 1940

The mechanism of the excretion of vitamin C by the human kidney at low and normal plasma levels of ascorbic acid.

J. Clin. Invest. 19, 685-689

GANONG, W.F., 1963

The central nervous system and the synthesis and release of adrenocorticotrophic hormone.

In: Advances in Neuroendocrinology (Ed.: A.V. Nalbandov), Univ. Illinois Press, Urbana, Il., pp. 92-155

GARBER, P.A., 1986

The ecology of seed dispersal in two species of callitrichid primates (*Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis*).

Am. J. Primat. 10, 155-170

GEYER, G., 1987

Untersuchungen zum Vitamin C-Metabolismus beim Krallenaffen.

Vet. med. Diss., München

GINTER, E., O. CERNA, J. BUDLOVSKY, V. BALAZ, F. HRUBA, V. ROCH and E.

SASKO, 1977

Effect of ascorbic acid on plasma cholesterol in humans in a long-term experiment.

Internat. J. Vit. Nutr. Res. 47, 123-134

GINTER, E., 1979

Chronic marginal vitamin C deficiency: biochemistry and pathophysiology.

Wld. Rev. Nutr. Diet 33, 104-141

GREENFIELD, N., L. PONTICORVO, I. CHASALOW and S. LIEBERMAN, 1980

Activation and inhibition of the adrenal 21-hydroxylation system cytosolic constituents: influence of glutathione, glutathione reductase, and ascorbate.

Arch. Biochem. Biophys. 200, 232-244

HALLBERG, L., 1981

Bioavailability of dietary iron in man.

Ann. Rev. Nutr. 1, 123-147

HANKES, L.V., C.R. JANSEN and M. SCHMAELER, 1974

Ascorbic acid catabolism in Bantu with hemosiderosis (scurvy)

Biochem. Med. 9, 244-255

- HELLMANN, L. and J.J. BURNS, 1958
Metabolism of L-ascorbic acid-1-¹⁴C in man.
J. Biol. Chem. 230, 923-930
- HODGES, R.E., J. HOOD, J.E. CANHAM, H.E. SAUBERLICH and E.M. BAKER, 1971
Clinical manifestations of ascorbic acid deficiency in man.
Am. J. Clin. Nutr. 24, 432-443
- HOFFMANN-LA ROCHE, 1983
Vitamin C-Unterversorgung.
Vitamin Information, Press Release/10/PG
- HOFFMANN-LA ROCHE, 1988
The role of vitamins in the prophylaxis and therapy of cancer.
Vitamin Information, Status Paper, Basel
- HORNIG, D., F. WEBER and O. WISS, 1971
Uptake and release of 1-¹⁴C-ascorbic acid and 1-¹⁴C-dehydroascorbic acid by erythrocytes of guinea pigs.
Clin. Chem. Acta 31, 25-35
- HORNIG, D., F. WEBER and O. WISS, 1973
Site of intestinal absorption of ascorbic acid in guinea pigs and rats.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 52, 168-172
- HORNIG, D., 1975
Distribution of ascorbic acid, metabolites and analogues in man and animals.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 258, 103-118
- HORNIG, D., J.-P. VUILLEUMIER and D. HARTMANN, 1980
Absorption of large, single, oral intakes of ascorbic acid.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 50, 309-314
- HORNIG, D. and D. HARTMANN, 1982
Kinetic behaviour of ascorbic acid in guinea pigs.
In: Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses (Eds.: P.A. Seib and B.M. Tolbert), American Chemical Society, Washington, D.C., Adv. Chem. Ser. 200, 293-316

- HORNIG, D., B. GLATTHAAR and U. MOSER, 1983
General aspects of ascorbic acid function and metabolism. In: Ascorbic Acid in Domestic Animals. Proceedings. Workshop Skjolenaesholm, Sept. 1983, The Royal Danish Agricultural Society Copenhagen, 1984, pp. 3-24
- IZAWA, K., 1975
Foods and feeding behaviour of monkeys in the upper Amazon basin.
Primates 16, 295-316
- IZAWA, K., 1978
A field study of the ecology and behaviour of the black-mantle tamarin (*Saguinus nigricollis*).
Primates 19, 241-274
- KAGAWA, Y., H. TAKIGUCHI and N. SHIMAZONO, 1961
Enzymic delactonization of dehydro-L-ascorbate in animal tissues.
Biochim. Biophys. Acta 51, 413-415
- KAGAWA, Y. and H. TAKIGUCHI, 1962
Enzymatic studies on ascorbic acid catabolism in animals. II. Delactonization of dehydro-L-ascorbic acid.
J. Biochem. 51, 197-203
- KALLNER, A.B., D. HARTMANN and D.H. HORNIG, 1977
On the absorption of ascorbic acid in man.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 47, 383-388
- KALLNER, A.B., D. HARTMANN and D.H. HORNIG, 1979
Steady-state turnover and body pool of ascorbic acid in man.
Am. J. Clin. Nutr. 32, 530-539
- KALLNER, A.B., D. HARTMANN and D.H. HORNIG, 1981
On the requirements of ascorbic acid in man: steady-state turnover and body pool in smokers.
Am. J. Clin. Nutr. 34, 1347-1355
- KALLNER, A., D. HARTMANN and D. HORNIG, 1982
Kinetics of ascorbic acid in humans.
In: Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses (Eds.: P.A. Seib and B.M. Tolbert) American Chemical Society, Washington, Adv. Chem. Ser. 200, 335-348

- KALLNER, A., D. HORNIG and R. PELLIKKA, 1985
Formation of carbon dioxide from ascorbate in man.
Am. J. Clin. Nutr. 41, 609-613
- KERN, M., 1986
Untersuchungen zum Vitamin C-Bedarf bei Krallenaffen der Spezies
Callithrix jacchus.
Vet. med. Diss., München
- KITABCHI, A.E., 1967
Ascorbic acid in steroidogenesis.
Nature 215, 1385-1386
- KONO, K., M. HAYAKAWA, K. ASAI and F. KUZUYA, 1987
Risk factors of atherogenicity in inherently scorbutic rats (OD rats).
J. Nutr. Sci. Vitaminol. 33, 1-10
- KOTZE, J.P., 1975
The effects of vitamin C on lipid metabolism.
S. Afr. Med. J. 49, 1651-1654
- KÜBLER, W. und J. GEHLER, 1970
Zur Kinetik der enteralen Ascorbinsäure-Resorption. Ein Beitrag zur
Berechnung nicht dosisproportionaler Resorptionsvorgänge.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 40, 442-453
- LA DU, B.N. and V.G. ZANNONI, 1961
The role of ascorbic acid in tyrosine metabolism.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 92, 175-191
- LEHNER, N.D.M., B.C. BULLOCK and T.B. CLARKSON, 1968
Ascorbic acid deficiency in the Squirrel Monkey.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128, 512-514
- LEVIN, E.Y., B. LEVENBERG and S. KAUFMAN, 1960
The enzymatic conversion of 3,4-dihydroxyphenylethylamine to
norepinephrine.
J. Biol. Chem. 235, 2080-2086
- LEVINE, M. and K. MORITA, 1985
Ascorbic acid in endocrine systems.
Vitamins and Hormones 42, 1-65

LIND, J.A., 1753

A treatise on the scurvy.

Zitiert nach CHICK, H., 1953

Early investigations of scurvy and the antiscorbutic vitamin.

Proc. Nutr. Soc. 12, 210-219

LIPSCOMB, H.S. and D.H. NELSON, 1960

Dynamic changes in ascorbic acid and corticosteroids in adrenal vein blood after ACTH.

Endocrinology 66, 144-146

MACHLIN, L.J., F. GARCIA, W. KUENZIG and M. BRIN, 1979

Antiscorbutic activity of ascorbic acid phosphate in the rhesus monkey and the guinea pig.

Am. J. Clin. Nutr. 32, 325-331

MC INTOSH, G.H., W. RICHMOND and R.L. HIMSWORTH, 1981

Vitamin C deficiency and hypercholesterolaemia in marmoset monkeys.

Nutr. Rep. Int. 23, 237-243

MC LENNAN, S., D.K. YUE, E. FISHER, C. CAPOGRECO, S. HEFFERNAN, G.R. ROSS and J.R. TURTLE, 1988

Deficiency of ascorbic acid in experimental diabetes.

Diabetes 37, 359-361

MC NEES, D.W., B.J. PONZIO, R.W. LEWIS, F.J. STEIN and R.F. SIS, 1982

Hematology of common marmosets (*Callithrix jacchus*).

Primates 23, 145-150

MILTON, K. and R. JENNESS, 1987

Ascorbic acid content of neotropical plant parts available to wild monkeys and bats.

Experientia 43, 339-342

MIRVISH, S.S., L. WALLCAVE, M. EAGEN and P. SHUBIK, 1972

Ascorbate-nitrite reaction: possible means of blocking the formation of carcinogenic N-nitroso compounds.

Science 177, 65-68

MOHN, G., 1974

Vitamin C, L-(+)-Ascorbinsäure.

In: Fermente, Hormone, Vitamine und die Beziehungen dieser Wirkstoffe zueinander. (Hrsg.: Ammon, R. und W. Dirscherl) Band III/1 Vitamine, pp. 873-961, Georg Thieme Verlag Stuttgart 1974

MOSER, U., 1987

Uptake of ascorbic acid by leukocytes.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 498, 200-216

MYLLYLÄ, R., E.-R. KUUTTI-SAVOLAINEN and K.I. KIVIRIKKO, 1978

The role of ascorbate in the prolyl hydroxylase reaction.

Biochem. Biophys. Res. Comm. 83, 441-448

NAKAJIMA, Y., T.R. SHANTA and G.H. BOURNE, 1969

Histochemical detection of L-gulonolactone: phenazine methosulfate oxidoreductase activity in several mammals with special reference to synthesis of vitamin C in primates.

Histochemie 18, 293-301

NAKASHIMA, Y., R. SUZUE, H. SANADA and S. KAWADA, 1972

Effect of ascorbic acid on tyrosine hydroxylase activity in vivo.

Arch. Biochem. Biophys. 152, 515-520

NANDI, B.K., A.K. MAJUMDER and K. HALDER, 1977

Effects of high intake of vitamin C by the guinea pigs in pregnancy and lactation on the tissue levels of the vitamin in their offspring.

Internat. J. Vit. Nutr. Res. 47, 200-205

NAPIER, J.R. and P.H. NAPIER, 1967

A handbook of living primates.

Academic Press Inc., New York, 1967

OBERRITTER, H. und K. SCHMIDT, 1985

Zur Bedeutung von Ascorbinsäure bei zellulären Abwehrreaktionen.

Ernährungs-Umschau 32, 238

ODUMOSU, A., 1982

Ascorbic acid and cortisol metabolism in hypovitaminosis C guinea pigs.

Internat. J. Vit. Nutr. Res. 52, 175-184

- OLSON, J.A. and R.E. HODGES, 1987
Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin C in humans.
Am. J. Clin. Nutr. 45, 693-703
- OMAYE, S.T., J.A. TILLOTSON and H.E. SAUBERLICH, 1982
Metabolism of L-ascorbic acid in the monkey.
In: Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses (Eds.: Selig, P.A. and B.M. Tolbert), American Chemical Society, Washington, D.C., Adv. Chem. Ser. 200, 317-334
- OMAYE, S.T., J.H. SKALA and R.A. JACOB, 1988
Rebound effect with ascorbic acid in adult males.
Am. J. Clin. Nutr. 48, 379-380
- OVESEN, L., 1979
Drugs and vitamin deficiency.
Drugs, 18, 278-298
- PAULING, L., 1970a
Vitamin C and the common cold.
(Ed.: Freeman, M., San Francisco)
- PAULING, L., 1970b
Evolution and the need for ascorbic acid.
Proc. Nat. Acad. Sci. 67, 1643-1648
- POLLOCK, J.I. and R.J. MULLIN, 1987
Vitamin C biosynthesis in prosimians: evidence for the anthropoid affinity of Tarsius.
Am. J. Phys. Anthropol. 73, 65-70
- RICHARDSON, J., 1985
Stress, adrenals, and vitamin C.
Medical Hypotheses 17, 399-402
- RICHARDSON, J., 1986
Vitamin C and immunosuppression.
Medical Hypotheses 21, 383-385
- RIVERS, J.M. and M.M. DEVINE, 1975
Relationship of ascorbic acid to pregnancy and oral contraceptive steroids.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 258, 465-482

- SALAMAN, L.L. and D.W. STUBBS, 1961
Some aspects of the metabolism of ascorbic acid in rats.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 92, 128-140
- SATO, P. and S. UDENFRIEND, 1978
Scurvy-prone animals including man, monkey and guinea pig do not express the gene for gulonolactone oxidase.
Arch. Biochem. Biophys. 187, 158-162
- SAUBERLICH, H.E., 1975
Vitamin C status: methods and findings.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 258, 438-450
- SCHMIDT, K., H. OBERITTER, G. BRUCHELT, V. HAGMAIER and D. HORNIG, 1983
Studies on the metabolic conversion of ascorbate.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 53, 77-86
- SELYE, H., 1950
The physiology and pathology of exposure to stress.
Acta, Inc., Montreal
- SELYE, H., 1973
The evolution of the stress concept.
Am. Sci. 61, 692-699
- SIEGEL, B.V. and J.I. MORTON, 1977
Vitamin C and the immune response.
Experientia 33, 393-394
- SIEMS, G., 1988
Ascorbinsäurestoffwechseluntersuchungen mit der Isotopen-exkretionsmethode bei Krallenaffen der Spezies Callithrix jacchus.
Vet. med. Diss., München
- SPENCER, R.P., S. PURDY, R. HOELDTKE, T.M. BOW and M.A. MARKULIS, 1963
Studies on intestinal absorption of L-ascorbic acid 1-¹⁴C.
Gastroenterology 44, 768-773
- STEVENSON, N.R., 1974
Active transport of L-ascorbic acid in the human ileum.
Gastroenterology 67, 952-956

STOKES, P.L., V. MELIKIAN, R.L. LEEMING, H. PORTMAN-GRAHAM, J.A. BLAIR and W.T. COOKE, 1975

Folate metabolism in scurvy.
Am. J. Clin. Nutr. 28, 126-129

SULKIN, N.M. and D.F. SULKIN, 1975

Tissue changes induced by marginal vitamin C deficiency.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 258, 317-328

THAXTON, J.P. and S.L. PARDUE, 1983

Ascorbic acid and physiological stress. In: Ascorbic Acid in Domestic Animals. Proceedings. Workshop Skjolenaesholm, Sept. 1983. The Royal Danish Agricultural Society Copenhagen 1984, pp. 25-31

THOMAS, W.R. and P.G. HOLT, 1978

Vitamin C and immunity: an assessment of the evidence.
Clin. Exp. Immunol. 32, 370-379

TILLOTSON, J.A., 1978

Ascorbate metabolism in the trained monkey.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 48, 374-381

TILLOTSON, J.A. and R. O'CONNOR, 1980

Ascorbic acid requirements of the trained monkey as determined by blood ascorbate levels.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 50, 171-178

TILLOTSON, J.A. and R.J. O'CONNOR, 1981

Steady-state ascorbate metabolism in the monkey.
Am. J. Clin. Nutr. 34, 2397-2404

TILLOTSON, J.A. and E.L. MC GOWN, 1981

The relationship of the urinary ascorbate metabolites to specific levels of ascorbate supplementation in the monkey.
Am. J. Clin. Nutr. 34, 2405-2411

TOGGENBURGER, G., M. HÄUSERMANN, B. MÜTSCH, G. GENONI, M. KESSLER, F. WEBER, D. HORNIG, B. O'NEILL and G. SEMENZA, 1981

Na⁺-dependent, potential-sensitive L-ascorbate transport across brush border membrane vesicles from kidney cortex.
Biochim. Biophys. Acta 646, 433-443

- TSAO, C.S. and S.L. SALIMI, 1984
Evidence of rebound effect with ascorbic acid.
Medical Hypotheses 13, 303-310
- TSO, M.O., 1987
Retinal photic injury in normal and scorbutic monkeys.
Trans. Am. Ophthalmol. Soc. 85, 498-556
- TUCKER, B.W., B.M. TOLBERT, J.E. HALVER and M. BALABAN, 1987
Brain ascorbate depletion as a response to stress.
Internat. J. Vit. Nutr. Res. 57, 289-295
- WILLIS, G.C., 1953
An experimental study of the intimal ground substance in atherosclerosis.
Canad. M.A.J. 69, 17-22
- YESS, N.J. and D.M. HEGSTED, 1967
Biosynthesis of ascorbic acid in the Acouchi and Agouti.
J. Nutr. 92, 331-333
- YONEDA, M., 1984
Ecological study of the saddle backed tamarin (*Saguinus fuscicollis*) in
Northern Bolivia.
Primates 25, 1-12
- ZANNONI, V.G., P.H. SATO and L.E. RIKANS, 1978
Ascorbic acid and drug metabolism.
In: Nutrition and drug interrelations. (Eds.: Hathcock, J.N. and J. Coon)
Acad. Press, New York, pp. 347-370

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Zucker für die Überlassung des Themas und die jederzeit freundliche Unterstützung meiner Arbeit.

Bei Frau Dr. C.I. Flurer möchte ich mich sehr herzlich bedanken für die hervorragende Betreuung bei der Durchführung und Anfertigung dieser Arbeit.

Ebenso danke ich auch Herrn Dr.rer.nat., Dr.med.vet.habil. W.A. Rambeck für die immer freundlich gewährte Hilfe.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. G. Reidel für die jederzeit hilfsbereite Unterstützung und die vielen wertvollen Hinweise.

Herrn Dr. W.E. Kollmer, Herrn Dr. D. Berg und Frau M. Reithmaier, Abteilung für Nuklearbiologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung (GSF) in München-Neuherberg, möchte ich vor allem für die Möglichkeit danken, in ihrer Abteilung Tierversuche durchführen zu können, außerdem für ihr großes Interesse an der Arbeit und ihre zahlreichen wertvollen Ratschläge.

Herrn Prof. Dr. F. Deinhardt danke ich für die Möglichkeit, mit Tieren des Max von Pettenkofer-Instituts für Hygiene und medizinische Mikrobiologie der Universität München, Versuche durchführen zu können.

Außerdem danke ich dem Tierpflegepersonal des Instituts für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München und der Abteilung für Nuklearbiologie in der GSF, München-Neuherberg für ihre sehr freundliche Hilfe.

LEBENS LAUF

Nicole Gaiser

04.05.1962

geboren in München
Vater: Herbert Gaiser,
Dipl.-Ing. Dipl.-Wirtsch.-Ing.
Mutter: Marianne Gaiser,
geb. Dieterich

1968 - 1972

Besuch der Grundschule in
Heidelberg

1972 - 1974

Besuch des neusprachlichen
Gymnasiums St. Raphael in
Heidelberg

1974-1981

Besuch des neusprachlichen Dante-
Gymnasiums in München

26.06.1981

Abitur

Oktober 1981 - Juni 1982

Praktikum in der Tierarztpraxis
Dr. Pinegger in München

1982 - 1987

Studium der Tiermedizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

seit 01.11.1987

Anfertigung der Dissertation am
Institut für Physiologie,
Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie der
Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

01.12.1987

Approbation als Tierärztin

